

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E HUMANAS**

Leandro Teodoro Júnior

**EXPLORANDO AS COMPLEXIDADES DO PAN-CÂNCER**

Estudos genéticos, vias moleculares e biomarcadores

SANTO ANDRÉ/SP

2023

LEANDRO TEODORO JÚNIOR

**EXPLORANDO AS COMPLEXIDADES DO PAN-CÂNCER**

Estudos genéticos, vias moleculares e biomarcadores

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Bacharelado de Ciências Biológicas da Universidade Federal do ABC como requisito final para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.


**Orientador:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Claudia Oliveira  
Carreira Nishiyama

SANTO ANDRÉ

2023

## FOLHA DE ASSINATURAS


Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliaram e aprovaram a Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso do candidato, LEANDRO TEODORO JÚNIOR realizado em 05 de Dezembro de 2023:

Documento assinado digitalmente  
 ANA CLAUDIA OLIVEIRA CARREIRA NISHIYAMA  
Data: 06/12/2023 12:40:36-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Claudia Oliveira Carreira Nishiyama**


Orientadora – Universidade Federal do ABC

Documento assinado digitalmente  
 VITOR PRADO COLANTONI  
Data: 06/12/2023 23:59:30-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Bsc. Vitor Prado Colantoni**

Instituto de Química da Universidade de São Paulo

Documento assinado digitalmente  
 ALICE MARCELA SAMPAIO DEL COLLETTO  
Data: 07/12/2023 17:24:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Dr<sup>a</sup>. Alice Marcela Sampaio Del Colletto**

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC  
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Teodoro Júnior, Leandro

Explorando as complexidades do pan-câncer : estudos genéticos,  
vias moleculares e biomarcadores / Leandro Teodoro Júnior. — 2023.

84 fls. : il.

Orientadora: Ana Claudia Oliveira Carreira Nishiyama

Trabalho de Conclusão de Curso — Universidade Federal do ABC,  
Bacharelado em Ciências Biológicas, Santo André, 2023.

1. Câncer. 2. Pan-câncer. I. Nishiyama, Ana Claudia Oliveira  
Carreira. II. Bacharelado em Ciências Biológicas, 2023. III. Título.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta monografia ao meu pai, Leandro Teodoro (*in memoriam*). Apesar de não ter convivido contigo, sempre estaremos juntos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a minha parceira de vida, futura Doutora Karen Rebouças Nascimento, por todo amor e carinho envolvido nos últimos 10 anos. Eu te amo!

Agradeço, em igual nível de importância, à minha mãe, Maria José Ferreira; à minha irmã, Jéssica Ferreira Teodoro; e à minha tia, Maria Cleonice Ferreira. Sem vocês, eu não seria o que sou.

Agradeço aos professores Leonardo José Steil, Marcela Sorelli Carneiro Ramos e Ana Paula de Mattos Arêas Dau, mentores incontestáveis na Universidade Federal do ABC. Sem vocês, minha formação teria sido pífia.

Agradeço meus orientadores, diretos e indiretos, na minha atual Pós-Graduação, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mari Cleide Sogayar, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Claudia Oliveira Carreira Nishiyama e Dr. Milton Yutaka Nishiyama Júnior, pelas inúmeras conversas e formações que possibilitaram um conhecimento profundo de minha área de pesquisa atual e vinculada a presente monografia.

Agradeço às minhas parceiras de curso, Rafaela Garrido Boffette e Michele Fernandes Takeno, por enfrentarem a loucura que é a UFABC comigo por todo esses anos.

Agradeço à Escola Preparatória da UFABC, local onde pude me desenvolver como profissional e ser humano.

Agradeço às Professoras Magali Canhamero e Edna Aparecida Faria de Almeida, da ETEC Júlio de Mesquita, minhas primeiras mentoras. O carinho que guardo por vocês é gigante, obrigado!

Agradeço a todos os meus alunos que *sofreram* (no melhor sentido possível!) em minhas mãos nos últimos 10 anos. Vocês sempre foram minha fonte de inspiração e vê-los florescer é minha motivação diária.

E por fim, agradeço a mim mesmo, por não ter enlouquecido *ainda*!

*“Na vida, quem perde o telhado, em troca recebe as estrelas.”*

Tom Zé

## **RESUMO**

O câncer é um conjunto de doenças multifacetadas e complexas que são caracterizadas pela proliferação, invasão e migração de células anormais, com distribuição difusa na população mundial, a depender do tipo tumoral. É uma das doenças com maior letalidade no mundo, responsável por cerca de nove milhões de mortes apenas em 2022, sendo esperados mais de 700 mil novos casos no triênio 2023 – 2025, apenas no Brasil.

A complexidade do câncer está relacionada com os diversos processos que levam ao seu surgimento e desenvolvimento, sendo cada câncer único e requerente de atenção específica da clínica médica. Entre esses processos estão os diferentes tipos de mutações que podem ocasionar supressão de genes supressores de tumor e ativação de oncogenes, desregulação epigenética, ação de miRNAs e/ou lncRNAs, microambiente tumoral específico que, em convergência, levam à ativação/repressão de vias voltadas à proliferação, transição epitélio-mesênquima, migração e invasão celular.

Apesar de tamanha diversidade existente, pesquisas recentes estabelecem o conceito de pan-câncer como meio de estudar a relação direta entre os mais diferentes tipos de tumores, utilizando-se para tal dados ômicos, redes regulatórias de gene e modelos de co-cultura tumoral por meio de organoides (entre outros), dando enfoque para áreas vinculadas à Descoberta de Drogas, terapias direcionadas e descoberta de biomarcadores.

Assim, o presente trabalho visa explorar a literatura clássica e atual acerca de tumores, de modo a correlacionar a conceituação de pan-câncer e seu uso potencial, tanto no ambiente acadêmico como no clínico. Serão utilizados motores de busca de artigos científicos com critérios de escolha vinculados ao fator de impacto da revista, número de citações e relevância dentro do escopo pan-câncer, com intuito de integrar e sistematizar os trabalhos escolhidos, de modo a gerar um panorama do tema.

**PALAVRAS-CHAVE:** Pan-câncer; Câncer; Terapia; Biomarcadores.



## **ABSTRACT**

*Cancer is a set of multifaceted and complex diseases characterized by the proliferation, invasion, and migration of abnormal cells, with a diffuse distribution in the world's population, depending on the tumor type. It is one of the deadliest diseases in the world, responsible for approximately nine million deaths in 2022 alone, with more than 700,000 new cases expected in the 2023-2025 triennium, in Brazil alone.*

*Its complexity is related to the various pathways that lead to its onset and development, with each cancer being unique and requiring specific attention from medical clinicians. These include different types of mutations that can lead to the suppression of tumor suppressor genes and the activation of oncogenes, epigenetic dysregulation, the action of miRNAs and/or lncRNAs, a specific tumor microenvironment that, in convergence, leads to the activation/repression of pathways related to proliferation, epithelial-mesenchymal transition, cell migration, and invasion.*

*Despite such diversity, recent research establishes the concept of pan-cancer as a means to study the direct relationship between different types of tumors, using omics data, gene regulatory networks, and tumor co-culture models through organoids (among others), with a focus on areas related to Drug Discovery, targeted therapies, and biomarker discovery.*

*Thus, the present work aims to explore the classical and current literature on tumors to correlate the concept of pan-cancer and its potential use, both in academic and clinical settings. Scientific article search engines will be used with selection criteria linked to the journal's impact factor, number of citations, and relevance within the pancancer scope, to integrate and systematize the chosen works to generate a landscape of the topic.*

**KEYWORDS:** *Pan-cancer; Cancer; Therapy; Biomarkers.*

## SUMÁRIO

Sumário.....	1
1. Introdução.....	2
2. Objetivos Gerais .....	11
3. Objetivos Específicos .....	12
4. Histórico e Epidemiologia .....	13
5. O Câncer como um Modelo Microevolutivo.....	18
6. Modificações Morfológicas em Tumores.....	20
7. Vias Moleculares Clássicas Associadas ao Processo Tumorigênico.....	22
8. Biomarcadores Tumorais.....	27
9. Angiogênese e Metástase Tumoral.....	29
10. O Microambiente Tumoral .....	32
11. Tratamentos Clássicos e Emergentes Em Tumores.....	36
12. O Pan-Câncer como objeto de estudo.....	45
13. Metodologia e Resultados .....	52
14. Conclusões.....	63
15. Referências Bibliográficas.....	64

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer não é uma única patologia, mas um conjunto de doenças multifacetadas, que convergem entre si por meio da desregulação celular de seus processos replicativos, sobretudo aqueles voltados à proliferação anormal e aumentada de uma população celular e/ou por meio de inibição dos mecanismos apoptóticos. Sua definição também é heterogênea, contudo, pode-se listar algumas características inerentes às centenas de tipos tumorais conhecidos, descritas abaixo:

- Mutações em genes-chave, vinculados a processos ou vias moleculares de proliferação e migração celular;
- Transição epitélio-mesenquimal;
- Microambiente celular e humoral associado ao tumor;
- Mecanismos de evasão imune;
- Angiogênese;
- Metástase.

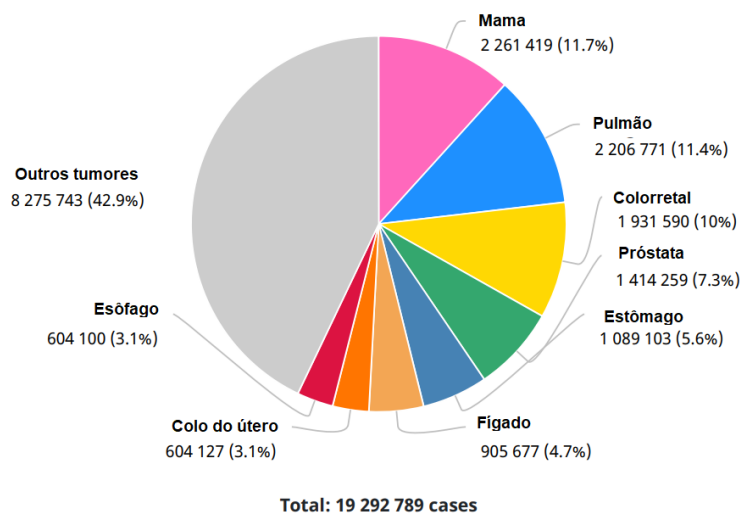
### *Epidemiologia*

Apenas em 2020, a incidência mundial de câncer ultrapassou a marca de 19 milhões de casos, sendo os tumores de mama, pulmão e colorretal os com maior número absoluto de casos, independente de sexo ou idade, respectivamente (Globocan, 2020). Considerando o mesmo ano, a mortalidade mundial, independente de sexo ou idade, atingiu 51,61%, com os tumores de pulmão, colorretal e fígado representando 35,7% deste somatório (Globocan, 2020).

Já no Brasil, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), há uma estimativa, para o triênio 2023 – 2025, de mais de 700 mil casos, delimitados em mais de 300 mil para tumores de pele não melanoma e acima de 400 mil para outros tipos de tumores (Inca, 2022). Destes, há uma distribuição disforme, no que concerne a incidência e letalidade, considerando as macrorregiões do país. Enquanto as regiões Sul e Sudeste concentram 70% dos casos de tumores, as regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste possuem 60% de toda letalidade (Inca, 2022; DATASUS, 2022), muito provavelmente associado ao IDH das regiões supracitadas.

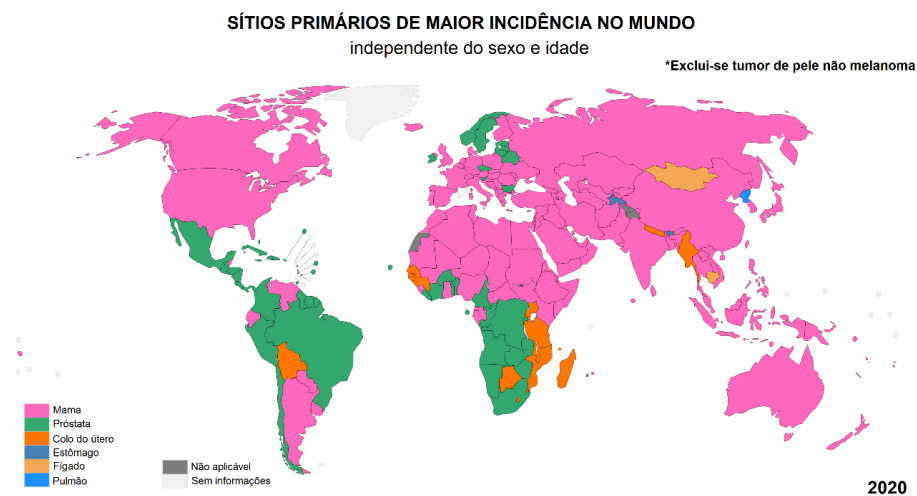
Em relação aos números dos principais sítios primários dos tumores, há uma homogeneidade característica, na qual tumores do sistema reprodutor (mama, ovário e próstata, conforme indicado nas Figuras 1 e 2) são os mais incidentes em todos os países do mundo, com exceção da Mongólia (tumor de fígado), Tajiquistão e Butão (tumor hepático) e República Popular Democrática da Coreia (tumor de pulmão) (Globocan, 2020) (Figuras 1 e 2).

**Figura 1** – Incidência de tumores no mundo, independente de sexo e idade.



**Fonte:** World Health Organization, International Agency for Research in Cancer, Global Cancer Observatory, 2020 (Adaptado).

**Figura 2** – Sítios primários de tumores com maior incidência no mundo, independente do sexo e idade



**Fonte:** World Health Organization, International Agency for Research in Cancer, Global Cancer Observatory, 2020.

Os tumores podem se dispor de diversas formas nos órgãos e tecidos do corpo. A organização *in situ* é aquela na qual o conjunto de células tumorais está restrito a um local, sendo este considerado não invasivo, enquanto tumores invasivos são aqueles que apresentam potencial migratório e metastático, sobretudo quando processos angiogênicos já se desenvolveram (Alberts, *et al.*, 2014). Os tipos de tecidos também são parte do processo classificatório, sendo os sarcomas e os carcinomas os principais, por estarem relacionados, respectivamente, com processos tumorigênicos de células de tecidos musculares e conectivos e tecido epitelial.

### *Classificação geral de tumores*

A classificação de tumores também pode se valer de análises anatômicas, de acordo com a Classificação de Tumores Malignos (*Classification of Malignant Tumours*, TNM) que se utiliza a extensão tumoral por base em três componentes:

**T**, referente a extensão do tumor primário: T1 – T4;

**N**, referente a ausência ou presença de metástase em linfonodos adjacentes: N0 – N2;

**M**, referente a ausência ou presença de metástase distante do sítio primário: M0 – M1.

Por exemplo, um tumor pancreático T2N2M0 se refere a um tumor de dimensão entre 2 e 4 cm, com metástase linfonodal em mais de 4 linfonodos e com ausência de metástase distante do sítio primário (Sobin, 2004). Logicamente, a TNM possui variação em relação ao tipo de tumor, como exemplificado na Tabela 1 abaixo:

**Tabela 1** – TNM em diferentes tipos de tumores

<b>Extensão do tumor (T)</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>	<b>T4</b>
Cabeça e Pescoço	$\leq 2\text{cm}$	$2 \leq x < 4$	$\geq 4$	Avanço metastático moderado
Gastrintestinais	$2 \leq x < 5$	$5 \leq x < 10$	$\geq 10$	
Pele	$\leq 2\text{cm}$	$2 \leq x < 4$	$\geq 4$	Invasão iniciada
Urinários	$\leq 2\text{cm}$	$2 \leq x < 4$	$\geq 4$	
Pulmonares	$< 3\text{cm}$	$3 \leq x < 5$	$5 \leq x < 7$	$\geq 7$
<b>Metástase em Linfonodos Adjacentes (N)</b>	<b>N0</b>	<b>N1</b>	<b>N2</b>	
Cabeça e Pescoço	Sem metástase para linfonodos próximos	1 linfonodo atingido	2 ou mais linfonodos atingidos	
Gastrintestinais				
Pele				
Urinários				
Pulmonares				
<b>Metástase distante (M)</b>	<b>M0</b>		<b>M1</b>	
Todos os tumores	Ausência		Presença	

Fonte: Do Autor, 2023.

Apesar de análises anatômico-patológicas serem vitais para investigação de tumores, a descoberta e a utilização de biomarcadores associados aos processos padrões de malignidade tumoral tornou-se o carro-chefe na clínica médica. O histórico da descoberta de marcadores tumorais data o século XIX e, passados 170 anos, foram-se delimitadas diversas moléculas amplamente empregadas em testes imunocito/istoquímicos que auxiliam no diagnóstico e prognóstico de pacientes afetados (Almeida, *et al.*, 2007).

Os principais biomarcadores tumorais são aqueles relacionados com processos celulares comuns, voltados à proliferação, diferenciação e migração celular, ou com funções moleculares associadas a processos de adesão e comunicação celular e estruturação fisiológica de tecido, conforme indicado na Tabela 1. A alfafetoproteína (AFP) é um exemplo deles, por sua função pivotal no desenvolvimento fetal, atuando em processos de diferenciação de tecidos e proliferação celular nessa fase de desenvolvimento. Concentrações altas de AFP em adultos indicam fortemente a presença de tecido maligno (Farias, 2021).

**Tabela 2** – Principais biomarcadores utilizados na Clínica Médica

<b>Biomarcador</b>	<b>Estrutura e/ou função</b>	<b>Tumor relacionado</b>
Alfafetoproteína	Proteína do soro fetal: transporte plasmático	Tumores gastrintestinais
Antígeno Tumoral de Bexiga		Tumores uroteliais
Telomerase	Ribonucleoproteína: manutenção da região telomérica	Tumor de bexiga
P53	Proteína associada ao gene supressor de tumor p53: controla o ciclo mitótico	Diversos
Ki-67	Proteína nuclear: regulação do ciclo mitótico	Mama; Linfonodos
MCA	Glicoproteína específica	Tumores do sistema reprodutor; mama
Cyfra 21.1	Antígeno derivado de citoqueratinas	Tumores de cabeça e pescoço; pulmão
PAP	Fosfatase ácida	Tumor de próstata
CA 15.3	Glicoproteína associada ao sistema imune	Tumor de mama
CA 19.9	Tetrassacarídeo de ligação O-glicano associado ao reconhecimento célula-célula	Tumor pancreático; colorretal

Catepsina D	Proteína vinculada a degradação de proteínas teciduais	Associado à metástase linfonodal
K-Ras	Proteína vinculada a processos de proliferação	Diversos
PSA	Serina-protease associada a liquefação do sêmen	Tumor de próstata

Fonte: Farias, 2021.

A existência de variados biomarcadores, em sua maioria específicos para diferentes tumores, demonstra não só a heterogeneidade dos cânceres, mas a grande dificuldade em diagnosticá-los e de identificar os potenciais genes diferencialmente expressos *in loco* e em células associadas, sendo estas, foco de extensas investigações na literatura recente.

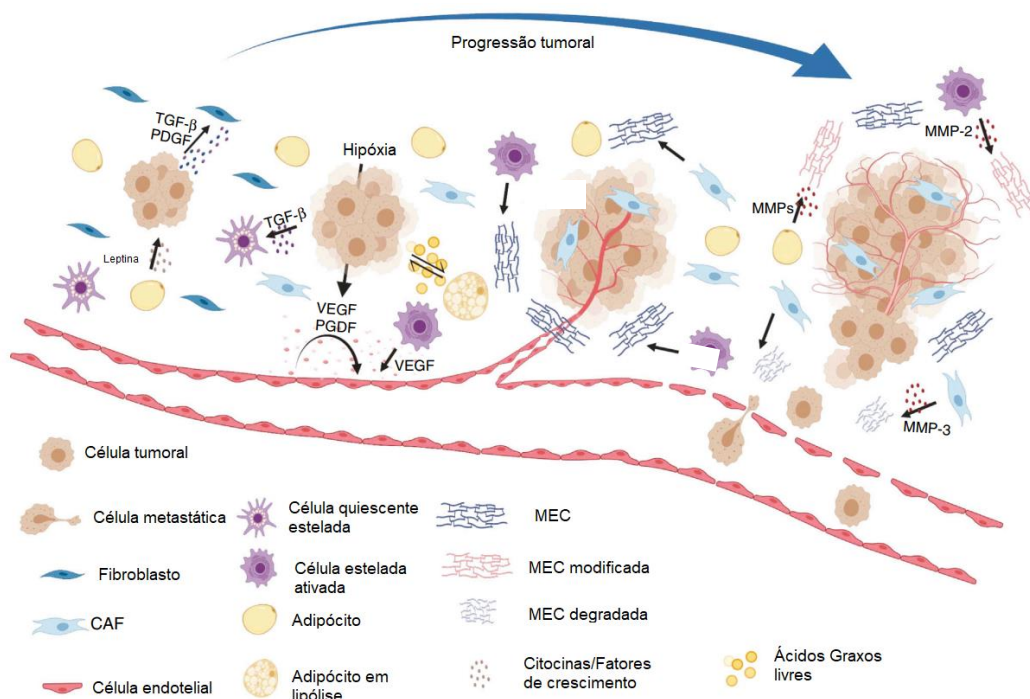
### *O microambiente tumoral*

Os tumores não são apenas definidos pela malignidade de suas células formadoras, mas também pelas células e componentes que estão em sua volta (Figura 3). Estes, definidos como microambiente tumoral, desempenham não apenas funções estruturantes do tumor, mas também as intrinsecamente relacionadas com sua progressão (Anderson, 2020).

As principais células que auxiliam na progressão tumoral são as células estromais. Fibroblastos associados ao tumor, células endoteliais e adipócitos facilitam processos de tumorigênese e processos migratórios geralmente por liberação de vários fatores moleculares, como o VEGF, importante na neovascularização tumoral, propiciando o início da angiogênese, além de outras moléculas voltadas ao efeito Warburg, caracterizado pela anormalidade dos processos metabólicos entre tecido normal/tecido tumoral (Hsu, 2008).



**Figura 3** – O microambiente tumoral e progressão de tumores



*Fonte: Anderson, N.M.; Simon, M.C. Current Biology, 2008 (Adaptado).*

Células do sistema imune, apesar de corresponderem ao sistema de defesa e inibição da proliferação tumoral, atuam de modo dúbio em processos tumorigênicos. Enquanto células T CD8<sup>+</sup> atuam diretamente na identificação e destruição de células tumorais e supressão de processos angiogênicos por meio de liberação de Interferon-Gama (IFN- $\gamma$ ), células T regulatórias (T<sub>regs</sub>) podem promover a progressão tumoral por meio de liberação de Interleucina-2 (IL-2) (Bussard, *et al.*, 2016).

Além disso, componentes não-celulares atuam diretamente na progressão tumoral e aumento de malignidade tumoral, sendo a matriz extracelular (MEC) o principal destes. Composta por fibronectinas, colágeno, elastina e laminina, fornece uma rede física que compõe a estrutura principal de tumores sólidos (Henke, *et al.*, 2020). Processos de desmoplasia, no qual o tecido conjuntivo, ricamente composto por MEC, cresce anormalmente nas adjacências de um tumor preexistente, é associado diretamente com um péssimo prognóstico para o paciente (Sobierajska, *et al.*, 2020).

Em suma, os tumores, independente da classificação dada, apresentam em seu cerne uma altíssima heterogeneidade, referente tanto aos tipos de genes envolvidos, biomarcadores associados, vias regulatórias existentes, quanto ao microambiente tumoral, diverso em componentes e diferenciado, a depender do tumor em questão. Contudo, uma área emergente tem sido vital para o estudo dos tumores: o pan-câncer.

### *O Pan-câncer*

O pan-câncer se consolidou nos últimos anos como uma área emergente que visa o estudo da heterogeneidade de tumores a partir de uma visão macro, com uso de tecnologias de nova geração de sequenciamento gênico e genômico capazes de gerar grandiosos bancos de dados que, por meio da integração de tecnologias Biocomputacionais, examinam, de modo comparativo, semelhanças e diferenças existentes entre os mais variados tipos de cânceres, proporcionando a integração de processos de migração, proliferação e invasão tumoral com um contexto de rede regulatória geral genética (Killock, 2018).

O uso dos biobancos vem proporcionado um aumento substancial de potenciais genes que podem estar relacionados aos processos tumorigênicos, sobretudo a partir de assinaturas genéticas análogas em diferentes tipos de tumores (Alexandrov, *et al.*, 2020). Tais assinaturas podem estar associadas a substituições, inserções ou deleções gênicas, conforme a Tabela 2 abaixo:

**Tabela 3** – Mutações gênicas associadas à tumores

<b>Tipo de assinatura</b>	<b>Etiologia</b>	<b>Tumores associados</b>
Substituição de Base única (SBS)	Desaminação da 5- metilcitosina	Adenocarcinomas
		Tumores de mama
		Tumores colorretais
		Tumores de ovário
		Tumores de estômago
		Tumores uterinos

Substituição de Base Dupla ( <i>DBS</i> )	Nicotina, poluição	Tumores hepáticos
		Tumores pulmonares
		Adenocarcinomas biliares
		Tumores de bexiga
		Tumores de estômago
Inserções/Deleções ( <i>Indels</i> )	Disfunções no mecanismo de DNA <i>mismatch repair</i>	Adenocarcinomas
		Tumores de mama
		Tumores colorretais
		Tumores de ovário
		Tumores de estômago
		Tumores uterinos
		Tumores de cabeça e pescoço
		Melanomas
		Tumores endócrinos
Linfomas		

**Fonte:** Alexandrov, *et al.*, *Nature*, 2020 (Adaptado).

Além das assinaturas gênicas supracitadas, consórcios internacionais propõem a utilização destes dados como método de pesquisa de padrões de origem celular, a partir de análises de similaridades moleculares, que relacionam as origens das células tumorais com os aspectos dos tumores *in situ* e invasivos; processos oncogênicos, que analisam como variantes genéticas e mutações somáticas influenciam na progressão tumoral; e também de mecanismos padrões associados a vias moleculares chave, correlacionadas com genes já estabelecidos na malignidade tumoral (MYC, RAS) e processos celulares voltados a ubiquitinação, *splicing* e metabolismo energético (TCGA Consortium, *Cell Press*, 2023).

Assim, a presente monografia tem como objetivo analisar, por meio de revisão bibliográfica, o estado da arte sobre tumores, de modo a convergir os conceitos já estabelecidos da área com as poderosas análises de pan-câncer, fornecendo um panorama geral do *status quo* atual da área.

## 2. OBJETIVOS GERAIS

Realizar uma análise abrangente e crítica da literatura científica atual relacionada a tumores, com enfoque nas análises de pan-câncer, com o propósito de sintetizar o conhecimento existente, identificar e sumarizar lacunas de pesquisa e tendências emergentes. Busca-se fornecer uma visão abrangente e atualizada do estado da arte nesse campo, promovendo uma compreensão dos principais conceitos, teorias e descobertas.

Além disso, pretende-se oferecer *insights* relevantes para a comunidade acadêmica e profissional, contribuindo para o avanço do conhecimento e orientando futuras investigações nessa área de estudo.

### **3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar uma análise da literatura científica recente para conceituar os principais tipos de câncer abordados pelo conceito de pan-câncer e suas convergências, com enfoque em compreender suas semelhanças e diferenças em suas vias moleculares subjacentes;
- Avaliar as evidências disponíveis sobre biomarcadores utilizados na detecção precoce, prognóstico e seleção de terapias específicas em diferentes tipos de câncer, destacando suas aplicações clínicas e limitações;
- Investigar as vias moleculares fundamentais envolvidas na progressão do câncer, explorando os avanços mais recentes no entendimento dos mecanismos celulares subjacentes e sua relevância para estratégias terapêuticas;
- Mapear o estado atual da pesquisa em pan-câncer e vias moleculares relacionadas, identificando as tendências emergentes e as principais lacunas de conhecimento que representam desafios para futuros estudos, com enfoque nas análises voltadas à área ômica de genes expressos e genes diferencialmente expressos;
- Sintetizar as descobertas e conhecimentos adquiridos ao longo da revisão bibliográfica em um formato acessível, fornecendo um panorama abrangente e atualizado do campo, visando auxiliar pesquisadores, profissionais de saúde e tomadores de decisão na área do câncer.

#### 4. HISTÓRICO E EPIDEMIOLOGIA

O conhecimento dos tumores como doença data mais de 5 mil anos, com os primeiros registros dados por populações egípcias, que o colocavam na categoria de “doença sem tratamento”. Na época, em papiros que registravam procedimentos cirúrgicos para traumas, foram listados oito tipos de tumores diferentes que, apesar de possuírem técnicas de dissecação como possíveis tratamentos, já eram colocados como doenças de alta malignidade. A própria terminologia, “câncer”, vem do grego *carcinos*, referente à forma do apêndice ventrolateral dos caranguejos, proeminente assim como visto em tumores sólidos em estágios avançados (*American Cancer Society*, 2018).

Apesar de um conhecimento já aprofundado sobre tumores em países africanos e do Oriente Médio, seu estudo ficou muito restrito a partir do período pré-socrático e aristotélico em países europeus, dada a proibição de dissecação de cadáveres por diversas religiões da época. Assim, considerando a corrente filosófica médica de Hipócrates, que tratavam as doenças como distúrbios dos humores corporais, os tumores ficaram classificados como doenças incuráveis causadas por distúrbios da bile negra até a Alta Idade Média (Sorkin, 2000).

Várias outras teorias, a partir do Renascimento, foram colocadas como explicação para o surgimento de tumores em humanos, sendo apenas no século XX que o compilado destas, por meio da descoberta dos oncogenes e dos genes supressores de tumores, trouxe uma perspectiva geral do que seriam (Kufe, *et al.*, 2003).

Os tumores são doenças que podem ser causadas por alterações genéticas em um ou mais genes-chave que regulam processos de proliferação, migração, invasão, apoptose ou vias correlacionadas a adesão, metabolismo ou estruturação intra e/ou extracelular de tecidos (Fonseca-Montaña, *et al.*, 2022; Hanahan, 2022). Desde a década de 60 do século XX, estudos e análises citogenéticas passaram a se debruçar em quais alterações do DNA e variantes gênicas poderiam estar envolvidas com esses processos e, só foi a partir do início do século XXI, com o sequenciamento completo do genoma humano que o *Human Cancer Genome Project*, ousou em elaborar uma revisão sistemática acerca destas alterações genômicas em diversos tipos de tumores, por meio de mais de 12 mil amostras de biópsias de mais de 50 tipos tumorais (Board, 2005).

Essa empreitada trouxe à tona similaridades entre todos os tumores estudados, relacionada a eventos ditos “catastróficos” que afetavam sequências específicas do genoma

causadas, em sua maioria, por somatória de mutações ligadas à amplificação de genes atuantes no ciclo celular e até mesmo por meio de mutações pontuais que geravam proteínas truncadas de processos mitóticos ou apoptóticos (TCGA *Genome Consortium*, 2020).

Apesar das evidências robustas da convergência entre tumores surgir apenas no final do século XX, diversos trabalhos trataram de auxiliar na causa diversa dos tipos de tumores. Já se era sabido que seu surgimento não estava relacionado com uma causa única, mas que agentes ambientais e biológicos, como vírus, “vermes”, poluição, tabagismo e etilismo estavam intrinsecamente relacionados com as mutações que poderiam ocasionar o surgimento de tumores (Lipsick, 2021).

O atual estado da arte relacionado com o surgimento de tumores traz elementos básicos para seu aparecimento:

- Surgimento de mutações sequenciais, que podem ser diretamente no genoma ou causadas por alterações epigenéticas, envolvidas com desregulação do ambiente homeostático e de descontrole dos processos de proliferação celular (Hong, 2018);
- Perda da comunicabilidade celular adjacente, conferindo assim uma habilidade de evasão do sistema imune (Puneet, 2018);
- Habilidade de expressão de fatores vinculados à maior sobrevivência celular (ou imortalidade celular, no caso de tumores codificadores da enzima telomerase) e de supressão de vias relacionadas a processos apoptóticos (supressão da cascata das caspases, por exemplo) (Hong, 2018);
- Habilidade de desregulação do processo metabólico normal, geralmente por meio de sequestro de fontes de carbono do tecido saudável, metabolismo por meio de processos de glicólise aeróbica com alta geração de lactato, além de um superestímulo, gerado por VEGF, para angiogênese (Amorim, 2018; Hanahan, 2011);
- Promoção de mecanismos de inflamação, por recrutamento de células imunes ou evasão imune (Bottcher, 2020);
- Processos de invasão e metástase linfonodal ou metástases distantes.

A partir dos pontos supracitados, pode-se definir câncer como um sistema complexo de doenças que são causadas por diversos fatores, desde a desregulação do ciclo mitótico, considerando toda sua complexidade inata (por meio de desregulação de proteínas dos *checkpoints* de verificação interfásica ou anafásica, por exemplo) (Johnson, 1999; Vermeulen, 2003), o acúmulo de mutações em diferentes regiões genômicas que trazem instabilidades

incontornáveis nas células afetadas, até mutações únicas em genes-chave vinculados aos processos de proliferação, adesão e migração celular, como os genes codificadores de proteína p53, CDK1, KIP, BRCA, entre outros (Ren, 2002).

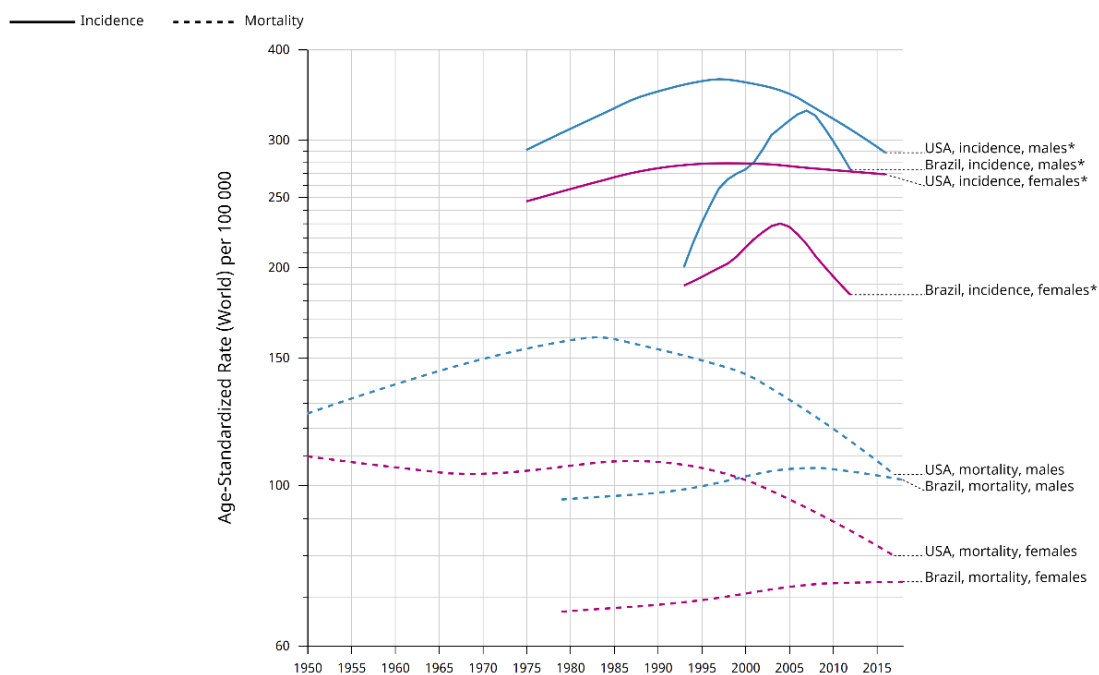
Algumas outras hipóteses também listam a existência das células-tronco tumorais como mantenedoras do processo tumorigênico. Essas células, possuintes das mesmas características das células-tronco normais, viabilizam a perenidade do tumor, além de estarem envolvidas com a resistência tumoral a tratamentos clássicos como radioterapia e quimioterapia (Ajani, 2015).

De qualquer forma, é conhecimento difundido que o câncer, apesar de surgimento comum entre seus diferentes tipos, possui inerente heterogeneidade, que se correlaciona com as mutações gênicas e genômicas existentes, com suas células associadas no denominado microambiente tumoral, com fatores epigenéticos, e mecanismos moleculares intrincados, fatores que dificultam a clínica médica no diagnóstico, prognóstico, tratamento e epidemiologia da doença a nível regional e mundial.

A epidemiologia de tumores ao redor do mundo é dispare quando se contrapõe dados de países desenvolvidos com países em desenvolvimento e/ou subdesenvolvidos. Em estudos longitudinais de incidência/mortalidade de cânceres nos Estados Unidos da América (EUA) (país classificado como desenvolvido – IDH: 0,921) e no Brasil (país classificado como em desenvolvimento – IDH: 0,754) (Unidade de Desenvolvimento Humano, ONU, 2023) vê-se claramente como fatores vinculados à vigilância precoce do sistema de saúde e/ou órgãos competentes estadunidenses viabilizaram uma análise mais criteriosa da população afetada por tumores, e como o surgimento e rigorosidade crescente do Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil proporcionou a redução das taxas de incidência e mortalidade de sua população afetada em menos de 40 anos (Figura 4).



**Figura 4** – Taxas de incidência e mortalidade de tumores por 10<sup>5</sup> indivíduos nos EUA e Brasil

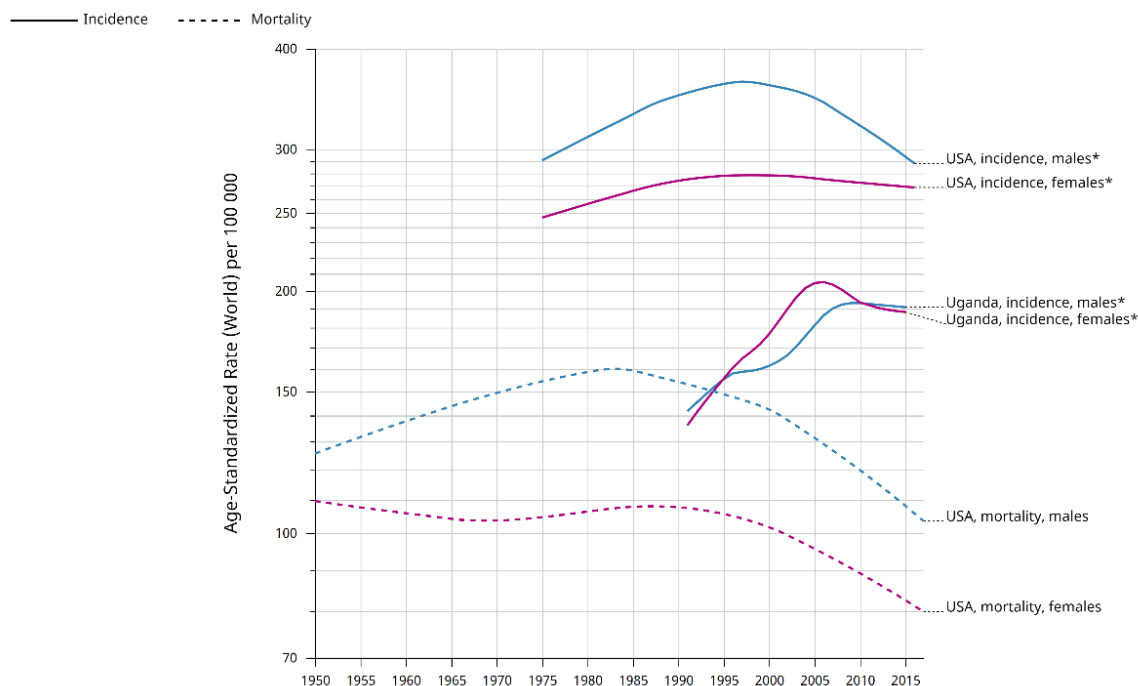


Dados analisados por regressão de LOESS. Dados apresentados em escala semi-logarítmica.

**Fonte:** *Cancer Overtime, IARC, World Health Organization, 2023.*

Já em comparações dos índices de incidência e mortalidade dos EUA e da Uganda (país subdesenvolvido – IDH: 0,525), a discrepância é ainda mais acentuada: apesar de ter sete vezes menos população absoluta que os EUA, Uganda figura com incidência de 200 indivíduos afetados por tumores a cada 100 mil habitantes, além de não disponibilizar, por acesso público, dados concisos de mortalidade de sua população (Figura 5).

**Figura 5** – Taxas de incidência e mortalidade de tumores por 10<sup>5</sup> indivíduos nos EUA e Uganda



Dados analisados por regressão de LOESS. Dados apresentados em escala semi-logarítmica.

**Fonte:** *Cancer Overtime, IARC, World Health Organization, 2023.*

No Brasil, o INCA disponibilizou neste ano de 2023, estimativas voltadas à incidência e mortalidade por tumores para o triênio 2023 – 2025. São estimados 704 mil novos casos de câncer, sendo 31,3% destes associados com tumores de pele do tipo não melanoma, 10,5% com tumores de mama e 10,2% com tumores de próstata (Inca, 2022) (Figura 6).

**Figura 6** – Distribuição dos 10 tipos de câncer mais incidentes para 2023, no Brasil

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0%	Homens	Mulheres	Mama feminina	73.610	30,1%
Cólon e reto	21.970	9,2%			Cólon e reto	23.660	9,7%
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5%			Colo do útero	17.010	7,0%
Estômago	13.340	5,6%			Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0%
Cavidade oral	10.900	4,6%			Glândula tireoide	14.160	5,8%
Esôfago	8.200	3,4%			Estômago	8.140	3,3%
Bexiga	7.870	3,3%			Corpo do útero	7.840	3,2%
Laringe	6.570	2,7%			Ovário	7.310	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.420	2,7%			Pâncreas	5.690	2,3%
Fígado	6.390	2,7%			Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3%

**Fonte:** Instituto do Câncer, Brasil, 2022.

Assim, estabelece-se que o entendimento dos pormenores vinculados ao surgimento, processos de tumorigênese, progressão e invasão tumoral é vital para a adequação e potencial redução dos dados epidemiológicos para o Brasil e para o mundo, além de serem importantes para viabilizar pesquisas no âmbito de ciência básica e aplicada que aprimorem os contextos de diagnóstico e prognóstico dos pacientes, garantindo tanto a prevenção, quanto maior sobrevida e qualidade de vida.

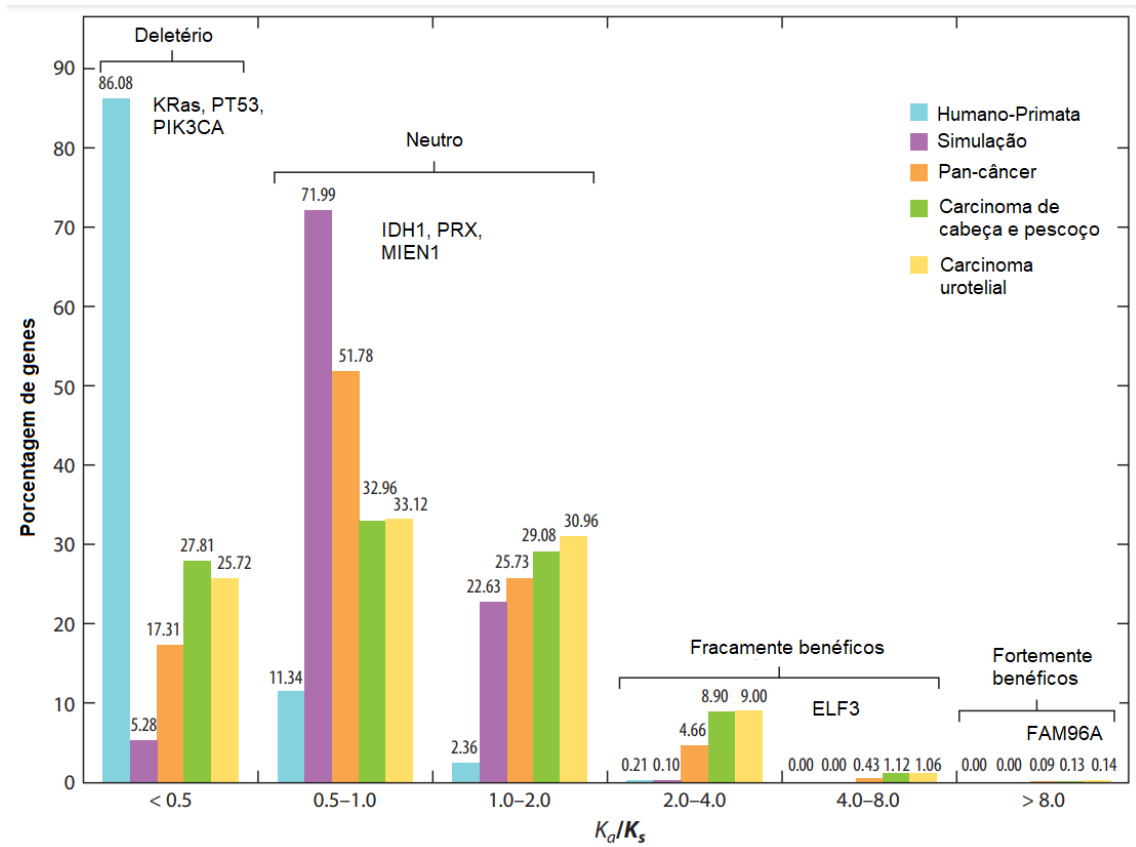
## 5. O CÂNCER COMO UM MODELO MICROEVOLUTIVO

O câncer, além de todas suas características supracitadas, se pauta, assim como toda natureza biológica, nos princípios evolutivos que regem a diversificação das espécies. Utilizando a espécie humana como escopo para o presente tópico, tem-se delimitado que o organismo humano é nada mais que um ambiente cooperativo no qual diferentes populações celulares vivem, se proliferam e compartilham nutrientes em uma estrutura multicelular. Neste aspecto, pode-se classificar o organismo humano como um ambiente microevolutivo, no qual pequenas divergências podem ocorrer (e ocorrem), por meio de mutações silenciosas ou não, que podem decorrer, com o passar do tempo, em modificações fenotípicas nos tecidos e órgãos diretamente ou indiretamente vinculados (assim como grandes divergências podem ser categorizadas, a grosso modo, como pertencentes a macroevoluções) (Wu, *et al.*, 2016).

Com isso, o câncer pode ser também definido como um distúrbio do modo cooperativo de vida das células de determinada população, distúrbio causado por mudanças na estrutura do DNA que podem ocasionar em uma vantagem evolutiva de uma única célula sob as demais, sobretudo se tal vantagem for relacionada com a capacidade replicativa da mesma (Alberts, *et al.*, 2014).

A partir de análises de dados disponibilizados pelo *TCGA Project*, considerando a proporcionalidade de mutações sinônimas ( $K_s$ ) e não sinônimas ( $K_a$ ) ocorrentes em populações humanas, pode-se também definir o câncer em seu estágio inicial, no âmbito microevolutivo, como um processo de neutralidade para o *fitness* da espécie, com relação  $K_a/K_s$  próximas a 1 para os mais variados genes associados ao processo tumorigênico, fato intrigante pois acreditava-se que a relação para existência de tumores ultrapassaria significativamente este valor. Contudo, genes-chave apresentam valores  $K_a/K_s$  extremamente elevados, caracterizando-os ainda mais como foco de estudos na área de pan-câncer (Wu, *et al.*, 2016).

**Figura 7** – Distribuição da taxa  $K_a/K_s$  de genes individuais no câncer e nos contextos evolutivos normais



Fonte: Wu, *et al.*, 2016 (Adaptado).

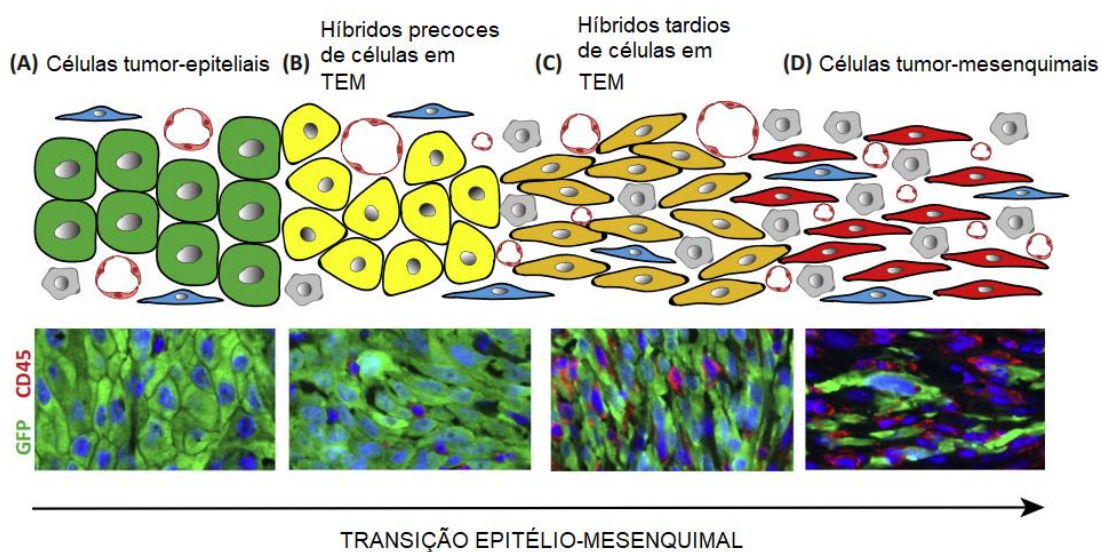
Vale-se pontuar que, durante toda sua vida, um ser humano pode ter  $10^{10}$  ocasiões nas quais podem ocorrer mutações independentes de fatores externos, ou seja, a quantidade de mutações relacionadas a um gene não leva, inerentemente, ao surgimento de uma neoplasia. Contudo, acoplado a condições hereditárias, poluição, contato com organismos sabidamente oncogênicos e outros, a somatória destas mutações pode levar ao surgimento de uma célula com capacidade evolutiva de proliferação diferencial (Alberts, *et al.*, 2014).

Com isso, têm-se um ambiente com alta instabilidade genética que, acoplado a outras condições, como algumas já citadas aqui (metabolismo irregular, auxílio de células associadas ao tumor presentes no microambiente tumoral), proporcionam a tumorigênese e a progressão tumoral, guiados por um senso microevolutivo de adaptação seletiva às células normais.

## 6. MODIFICAÇÕES MORFOLÓGICAS EM TUMORES

Processos de diferenciação celular são vitais para o surgimento de células especializadas em funções, contudo não são os únicos a apresentarem importância no organismo. Transições celulares possuem igual importância, sobretudo em um contexto de desenvolvimento embrionário/fetal, de modo a estabelecer morfologias celulares diferentes em um tecido para desempenho de funções especializadas. A transição epitélio-mesênquima (TEM), definida como processo de conversão de uma célula epitelial polarizada em células mesenquimais, é fundamental para processos de gastrulação e delaminação da crista neural, bem como na geração de células com motilidade capazes de atuar na degradação de membranas basais de tecidos (Dongre, *et al.*, 2019).

**Figura 8** – Representação esquemática da TEM



**Fonte:** Pastushenko, I.; Blanpain, C. *Trends in Cell Biology*, 2019 (Adaptado).

Contudo, devido esta característica, a TEM está fortemente associada com processos de tumorigênese e progressão tumoral. Durante a TEM, as células, normais ou cancerosas, passam por mudanças fisiológicas intensas. Vários fatores de transcrição participam desse processo, como o TWIST1/2, de modo que sua superexpressão inibe uma série de genes vinculados com o estado normal do epitélio, viabilizando a TEM (Nieto, 2013).

Os principais fatores de transcrição e/ou proteínas atuantes no processo de transição epitélio-mesenquimal são correlatos em viabilizar a TEM, sendo eles as famílias Snail e Slug e ZEB1/2. Todos estes influenciam na repressão ou expressão de proteínas de junção celular, denominadas caderinas (Loh, *et al.*, 2019).

As E-caderina e N-caderina, proteínas com alta similaridade molecular, desempenham papéis importantes na adesão e comunicação entre células. Tem-se como funções principais para a E-caderina (Caderina epitelial):

- Adesão entre células epiteliais: Ela é especialmente importante em tecidos epiteliais, como a pele e o revestimento dos órgãos internos;
- Formação de junções aderentes (também conhecidas como junções aderentes ou zonas de aderência) entre células epiteliais adjacentes. Isso ajuda a manter a integridade do tecido e a barreira entre diferentes compartimentos do corpo;
- Sinalização celular, influenciando processos como a migração celular, a diferenciação e a morfogênese durante o desenvolvimento embrionário.

Já para a N-caderina (Caderina neural) tem-se como principais funções associadas:

- Adesão celular, expressa principalmente em células nervosas, mas também em outros tipos de células;
- Adesão entre células neurais e na organização de conexões sinápticas no sistema nervoso;
- Migração de células neurais durante o desenvolvimento embrionário e na plasticidade sináptica, permitindo a adaptação das conexões neurais em resposta a estímulos e aprendizado.

Ambas as caderinas desempenham funções essenciais na manutenção da estrutura e da comunicação entre células em diferentes tipos de tecidos. Contudo, quando associadas aos fatores de transcrição e proteínas supracitados, em ambientes celulares que estão vinculados aos processos de tumorigênese, facilitam a TEM, por meio da supressão de E-caderina e ativação da N-caderina. A supressão da E-caderina é causada principalmente pelo silenciamento do promotor CDH1 em regiões *E-boxes* por *Snail*, *Slug* e *Twist* (Porto, 2014; Onder, *et al.*, 2008), fator que permite que as células percam sua aderência umas às outras e adquiram propriedades mais mesenquimais. Já a ativação da N-caderina é dependente de diferentes

fatores também associados a E-caderina, como Twist, além da proteína KMT5A, pertencente à família das metiltransferases que, por meio da interação direta com Twist, induz a região promotora da N-caderina por meio de metilação H4K20 (Serrano-Gomez, 2016), o que facilita a adesão de células em transição a outras células mesenquimais e promove a migração e invasão.

Todos os fatores de transcrição associados as caderinas e, conseqüentemente a TEM, são vinculados à diversas vias moleculares de regulação dos processos diretamente associados a malignidade tumoral, apresentados em detalhes no tópico seguinte.

## **7. VIAS MOLECULARES CLÁSSICAS ASSOCIADAS AO PROCESSO TUMORIGÊNICO**

As vias moleculares associadas ao processo tumorigênico desempenham um papel fundamental na compreensão da formação e progressão de tumores. Estas vias são intrincadas redes de comunicação celular que regulam o crescimento, a proliferação, a sobrevivência e a diferenciação das células e, em geral, estão associadas com processos regulatórios do ciclo celular (Guo, *et al.*, 2020).

### *ERK/MAPK*

A via do ERK/MAPK desencadeia diversos mecanismos associados a transmissão de sinais extracelulares para o interior da célula, de modo a desenrolar mecanismos de regulação de diversos processos como proliferação, diferenciação, inibição apoptótica e resposta ao estresse celular (Keshet, 2010). O sinal transmitido segue uma cascata molecular por meio da família das proteínas quinase ativadas por mitógenos (MAPK), na qual participantes como ERK1, ERK2, MAP3K, MAP4K, MAPKK, MAPKAPK e JNK participam ativamente (Eblen, 2018).

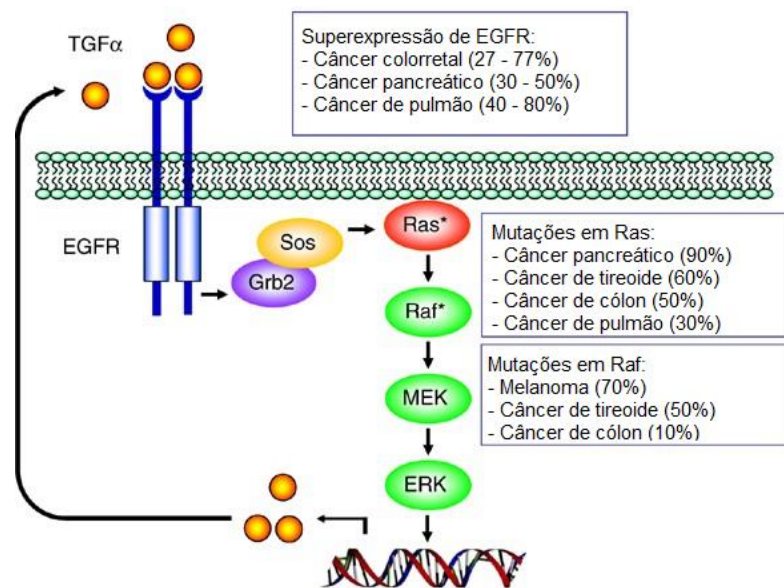
A cascata clássica da via ERK/MAPK ocorre por meio de sinais externos, que podem ser via mitógenos ou fatores de crescimento. A partir da interação com MAPKs presentes na membrana plasmática, estas sofrem processo de translocação, viabilizando no caminho catálises diversas de grupos fosforilados presentes no citoplasma e no núcleo, gerando respostas

de crescimento, migração e diferenciação celular (Plotnikov, 2010). Contudo, apesar de respostas efetoras comuns, cada membro da família MAPK ou proteínas associadas possui um mecanismo molecular distinto, ativado por diferentes fatores. A ERK, uma proteína quinase do tipo serina/treonina é ativada sobretudo por mitógenos. Após ativação, há o processo de translocação para o núcleo, ocorrendo assim a regulação de fatores de transcrição e modulação da expressão gênica (Bolton, 1991); a proteína Ras, derivada da expressão do oncogene *Ras*, por sua vez, é estimulada primariamente por fatores como EGF, TNF e proteína quinase C. Devido à sua estrutura alternante de sítios GTP/GDP, a cascata por Ras é dependente da formação de um complexo com outros componentes moleculares, de modo a se vincular e ativar a proteína quinase Raf, viabilizando a cascata subsequente por MEK e ERK que, por meio de translocação para o núcleo, ativam processos celulares de proliferação (Shimanshu, 2017; Ding, 2001); MEK, em consonância com a cascata de Ras/Raf, também possui uma via relacionada com proliferação celular. A ativação de Raf promove a interação de seu domínio catalítico C-terminal com MEK1 e MEK2 (Manning, *et al.*, 2002), ativando a ação quinase de MEK para fosforilação de ERK que, por sua vez, transloca-se para o núcleo para ações efetoras (Avruch, *et al.*, 2002).

Importante considerar que todas essas vias associadas a ERK/MAPK ocorrem em processos homeostáticos no organismo, todavia possuem relações diretas com células tumorais (Figura 9). Considerando que tumores tem como características principais a inibição da adesão celular e todos os processos de malignidade já citados, é coerente que esses ocorram por uma integração sistemática de superexpressão de vias como a ERK/MAPK e as vias seguintes.



**Figura 9** – Exemplo de interação de TGF- $\alpha$  como ligante da via ERK/MAPK



**Fonte:** Roberts e Der, *Oncogene, Nature, 2007 (Adaptado)*.

### PI3K/Akt

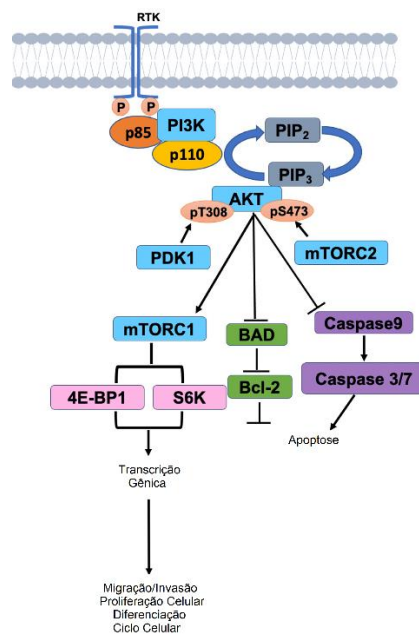
Assim como a via ERK/MAPK, a via de sinalização das fosfatidilinositol-3-quinases é uma das representantes principais da sinalização intracelular, atuando não apenas em processos de proliferação, mas em regulação da sobrevivência celular, da resposta ao estresse, do crescimento e metabolismo celular, além de ser efetora da reorganização do citoesqueleto em resposta a condições diversas (Liu, *et al.*, 2009). Vários oncogenes e fatores de crescimento estão associados com sua ativação, além de possuir modulação diretamente relacionada com modificações epigenômicas (Courtney, *et al.*, 2010). Em tumores sólidos, evidências demonstram que a presente via está superativada principalmente devido a mutações somáticas em alguns de seus membros moleculares mais importantes, como a proteína PIK3CA (Altomare, 2005).

Sua ativação em tumores se dá por dois mecanismos principais, ambos relacionados com a ativação de receptores de tirosina-quinase, além da superativação da via também possuir relação com a inibição do gene supressor de tumor *PTEN* (Pérez-Tenorio, *et al.*, 2007; Balakrishnan, 2013).

A ativação da via PI3K/Akt é controlada por meio de várias etapas (Figura 10). A partir de fatores de crescimento, subunidades de proteínas PIK são ativadas, por meio da conversão

do sítio catalítico PIP<sub>2</sub> em PIP<sub>3</sub>. Com isso, a proteína-quinase B (PKB)/Akt se liga na região PIP<sub>3</sub>, permitindo assim a fosforilação de PDK1. A modificação gerada é vital para a ativação de mTORC1, promovendo assim processos de expressão gênica e proliferação (Hemmings e Restuccia, 2012).

**Figura 10** – Ativação da via PI3K/Akt e suas ações efetoras



Fonte: Su, et al., MDPI, 2022.

### Wnt/ $\beta$ -catenina

A via Wnt, seguindo a complexidade das vias supracitadas, possui dois caminhos, denominados canônico e não-canônico. O caminho não-canônico é relacionado a independência de fatores vinculados à  $\beta$ -catenina, enquanto o canônico envolve a translocação nuclear da  $\beta$ -catenina ao núcleo para ativação de fatores de transcrição (Liu, et al., 2022). Em relação a processos, a via Wnt está envolvida com o controle da proliferação celular, além da função exclusiva da via não-canônica na regulação da polaridade celular e migração tumorigênica (Clevers, 2006).

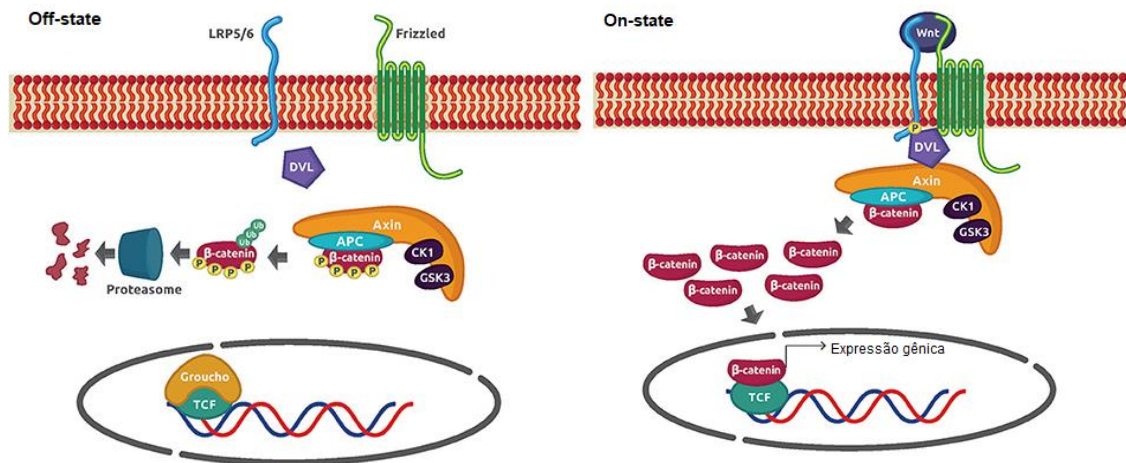
Em linhas gerais, a via Wnt/  $\beta$ -catenina se estabelece a partir de quatro segmentos, pelos quais suas ações efetoras são realizadas. No segmento 1, têm-se a mediação extracelular via proteínas Wnt; no segmento 2, denominado segmento membranar, estão associadas as proteínas

Wnt *Frizzled*; o segmento 3, citoplasmático, possui a  $\beta$ -catenina como principal efetor; enquanto o segmento 4, nuclear, inclui também a  $\beta$ -catenina, por meio de sua translocação, e fatores como o TCF/LEF, regulando fatores de transcrição, metaloproteases e genes como o *c-Myc* (Nusse e Clevers, 2017).

O caminho canônico é ativado por meio de ligantes de Wnt no ambiente extracelular. A ausência destes estabelece um modo desligado (*off state*), no qual a  $\beta$ -catenina é enviada para complexos proteassômicos, evitando assim seu acúmulo citoplasmático (Figura 11). Já no modo ligado (*on state*), os ligantes de Wnt se conectam aos receptores *Frizzled* e a outros ligantes (como as proteínas relacionadas às lipoproteínas de baixa densidade 5 e 6 – LRP5/6), fosforilando grupos do complexo proteassômico da  $\beta$ -catenina e evitando assim que ela seja degradada (Figura 11). Com isso, a  $\beta$ -catenina sofre processo de translocação para o núcleo, interagindo com os fatores TCF/LEF e modulando o remodelamento da cromatina e genes relacionados com proliferação celular (Koni, Pinnarò e Brizzi, 2020).

Já no caminho não-canônico, os ligantes de Wnt conectam-se aos receptores *Frizzled*, em conjunto a correceptores de proteínas tirosino-quinases, iniciando uma cascata reacional que envolve GTPases, proteínas semelhantes à Ras (RhoA) e vias associadas a vias de quinases (ERK/JNK/MAPK) (Gajos-Michniewicz, 2020), com ações efetoras no rearranjo do citoesqueleto, motilidade celular e polaridade (Koni, Pinnarò e Brizzi, 2020).

**Figura 11** – Via canônica da Wnt/  $\beta$ -catenina e seus estados desligado (*off-state*) e ligado (*on-state*)



**Fonte:** Silva-García, Valdez-Alarcón e Baizabal-Aguirre, *Frontiers in Immunology*, 2019.

Com isso, pode-se definir que as principais vias de sinalização supracitadas, quando em ambiente tumoral, terão amplo efeito no aumento da malignidade em diferentes tipos de tumores, estabelecendo um mau prognóstico para pacientes que enfrentam tais doenças.

## 8. BIOMARCADORES TUMORAIS

A complexidade tumoral está diretamente associada com as moléculas que desenvolvem seus processos de surgimento e progressão. Conforme já visto, são centenas de mecanismos que regulam os processos de malignidade, geralmente por meio de vias de sinalização, que são iniciadas pela ligação com fatores extracelulares, provenientes do microambiente tumoral, e estimulam a desestabilização celular. A interação desses fatores com componentes da matriz extracelular, da membrana plasmática e do citoplasma desencadeiam os processos que são vinculados com a progressão de tumores, angiogênese e metástase. Com isso, pode-se definir diversas moléculas atuantes nesses processos como marcadores biológicos de neoplasias.

É importante salientar que os marcadores biológicos de câncer, denominados também como biomarcadores, são gerados tanto por células neoplásicas ou do microambiente tumoral quanto por células saudáveis em resposta à presença de tumores (Sarhadi e Armengol, 2022). Na clínica, são utilizados como indicadores do risco de se desenvolver tumores, de evidência a ocorrência dos mesmos, além de darem prognósticos consistentes aos pacientes (Schienda, *et al.*, 2020).

Os biomarcadores de câncer podem ser proteínas, glicoproteínas, glicanos, variantes gênicas, *long non-coding* RNAs ou até mesmo células tumorais circulantes que estão relacionados com processos de progressão tumoral (Tabela 3). Apesar de várias similaridades entre alguns destes com diferentes tipos de tumor, boa parte dos biomarcadores com importância clínica atual possuem especificidade, considerando as características únicas de cada tecido corporal. Utilizando como exemplo cânceres de ovário e mama, já é estabelecida a relação dos genes mutados *BRCA1* e *BRCA2* com processos de tumorigênese em mulheres (Akras, *et al.*, 2019), mutações que não são relevantes para outros tipos de tumores, como os gastrintestinais. A identificação de biomarcadores nos mais diferentes tipos de tumores é de extrema importância para a pesquisa clínica, sobretudo se os mesmos estão relacionados com um pior prognóstico para os pacientes, por ser possível assim, a proposição de terapias-alvo específicas que possam garantir uma melhora ou uma maior sobrevida. Ainda assim, a busca é

difícil, considerando que inúmeras moléculas ainda não têm função conhecida nas vias que regulam a modulação da malignidade tumoral (Chen, 2021).

**Tabela 4** – Principais biomarcadores para diferentes tumores

<b>Tipo de biomarcador</b>	<b>Tipo de Câncer</b>	<b>Biomarcador</b>
Preditivo	Mama	<i>BRCA1/2</i> <i>HER2</i> <i>TOP2A</i>
	Colorretal	<i>RAS</i> <i>BRAF</i>
	Carcinoma de células escamosas	<i>HER</i> <i>KRAS</i>
	Pulmão	<i>ROS1</i> <i>BRAF V600E</i>
	Melanoma	<i>BRAF V600E/K</i>
Prognóstico	Mama	<i>HER2</i> <i>TOP2A</i> <i>70-gene expression profile</i> <i>58-gene RNA expression profile</i>
	Próstata	tPSA
	Leucemia mieloide	<i>EGR1</i>
Diagnóstico	Bexiga	Aneuploidia dos cromossomos 3, 7, 17 Perda do 9p21
	Mama	<i>MG</i> <i>CK19</i>
	Colorretal	Ensaio de hemoglobina
	Leucemia linfocítica de Células B	Região alfa-satélite 12p11.1-q11
	Ovário	Mutação em <i>BRCA1/2</i>
	Próstata	<i>PCA3</i>

Fonte: Chen, *Journal of Physics: Conference Series*, 2021 (Adaptado).

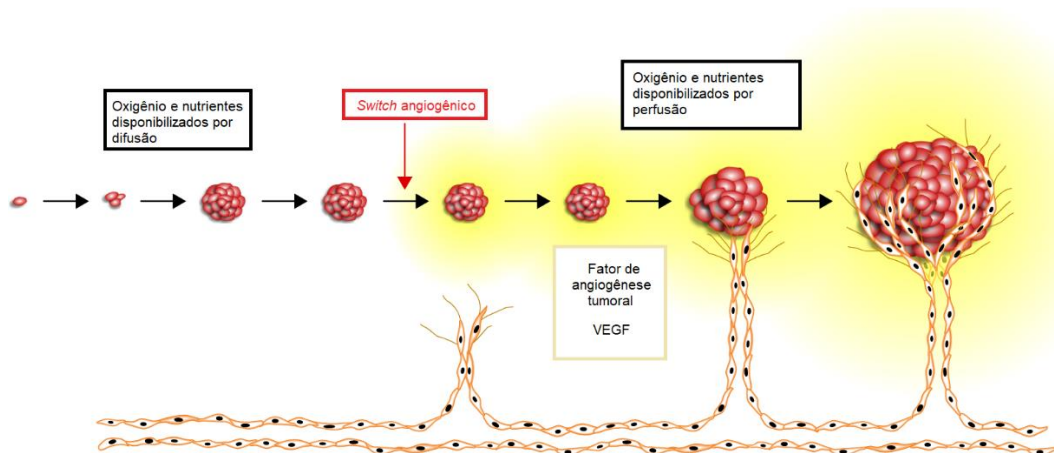
## 9. ANGIOGÊNESE E METÁSTASE TUMORAL

Um tumor estabelecido precisa de insumos básicos, como oxigênio e fontes de carbono para crescer e se proliferar e, para isso, é necessária uma integração com o sistema vascular, de modo que possa capturar macro e micronutrientes que são disponibilizados ao organismo pela corrente sanguínea. Contudo, de início, os tumores não possuem as estruturas para coletar esses insumos. Foi a partir desse paradoxo que Folkman e colaboradores (1971) propuseram a hipótese do surgimento de vasos sanguíneos oriundos do próprio tumor, por meio da síntese de fatores pró-angiogênicos (Lugano, Ramachandran e Dimberg, 2020).

A angiogênese é um processo no qual tumores dito dormentes (*in situ*) modulam a regulação homeostática de fatores pró e anti-angiogênicos naturais do organismo, com início dado pela associação de células endoteliais ao tumor, seguida da construção de uma rede capilar complexa, que garante o crescimento tumoral e consequente metástase (Nowak-Sliwiska, *et al.*, 2018). A ativação de células endoteliais que, em geral, são quiescentes, ocorre por picos de fatores pró-angiogênicos, como o Fator de Crescimento Vascular Endotelial, VEGF. A partir da ativação das células endoteliais por VEGF, outros componentes importantes são produzidos, como fatores relacionados ao surgimento de plaquetas e receptores de VEGF. O processo continua com o bloqueio da via *Notch* de sinalização que, no sistema vascular, estabiliza e modula o processo de angiogênese natural. A desestabilização e descontrole do processo de angiogênese remodela o sistema vascular na região tumoral, originando assim novos vasos ligados ao tumor (Liu, *et al.*, 2003).

Os vasos tumorais também podem ter origens angiogênicas diferentes, denominadas angiogênese por brotamento, por intussuscepção e coalescente (Figura 12). Na angiogênese por brotamento, a formação de vasos tumorais ocorre por meio de uma estrutura capilar preexistente, sob influência de fatores de crescimento e estabelecimento de uma rede de matriz extracelular (Griffioen, 2000); na intussuscepção, por sua vez, originam-se dois novos vasos a partir do repique equacional de um vaso preexistente, sem necessidade de proliferação celular acentuada (Dojonov, Kurz e Burri, 2002); já na coalescente ocorre através da formação de “árvores” capilares de uma malha vascular inicial, com fusão de capilares periféricos e regressão de capilares menos perfundidos, diminuindo assim o número de vasos e aumentando o diâmetro do vaso principal, agora diretamente correlacionado ao tumor (Nitzsche, *et al.*, 2021).

**Figura 12** – Processo de angiogênese estimulado por VEGF



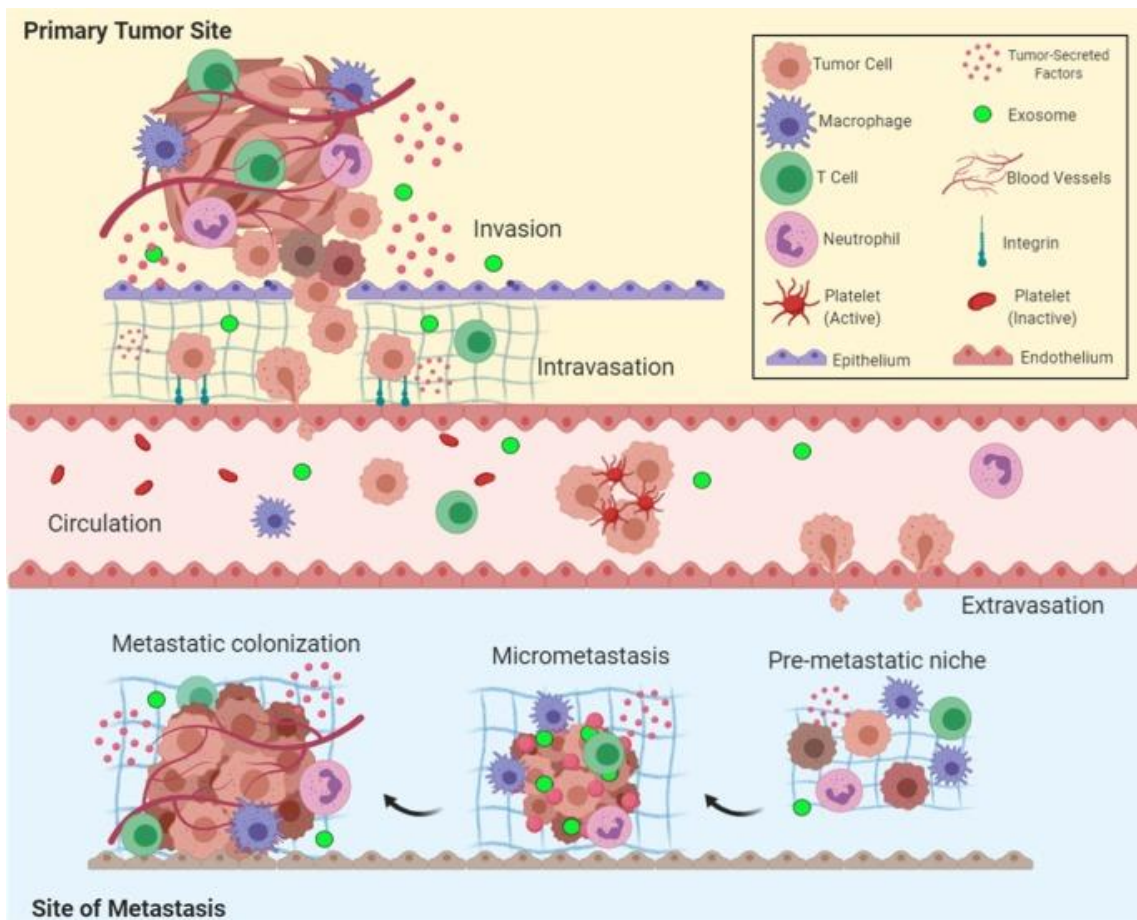
**Fonte:** Do Autor, via BioRender (Adaptado).

A angiogênese é o principal mecanismo para o processo metastático, correspondente aos tipos de tumores classificados como malignos (Figura 13). A metástase é definida como um processo no qual um tumor primário, dada a integração primária e imediata com os linfonodos locais, se dissemina para o espaço extra local, por meio de mecanismo de evasão celular e inibição de fatores anti-tumorigênicos (Fischer, *et al.*, 2015).

Seus mecanismos podem ser diversos, ou seja, não seguem um padrão linear para disseminação adjacente ou distante, justamente devido as diversas possibilidades de processos angiogênicos e também devido a heterogeneidade do microambiente tumoral (Suhail, *et al.*, 2019). Esse padrão diverso se enquadra na definição guarda-chuva *growth-and-go*, que explicita o foco do processo maligno, independente do mecanismo realizado (Hatzikirou, *et al.*, 2012).



**Figura 13** – Mecanismos de metástase e células associadas



**Fonte:** Fares, *et al.*, *Signal Transduct Target Ther*, 2020.

O processo inicial da metástase pode ocorrer por meio de uma única célula ou *cluster celular* que invade linfonodos próximos ou por migração para tecidos e órgãos mais distante pelos vasos associados ao tumor local (Aceto, *et al.*, 2014). Devido à instabilidade genômica das células tumorais, sua adaptação aos ambientes fora do microambiente tumoral inicial é rápida, o que ocorre por meio de adaptações físicas por remodelamento do citoesqueleto, da membrana plasmática e da expressão gênica de proteínas envolvidas com processos desmossomais e de adesão celular de um modo geral (Cheung, *et al.*, 2013). Genes envolvidos com processos de resistência à hipóxia e anóxia também estão envolvidos, como a cascata reacional ocorrida pelos genes *Hypoxia-Inducible Factor (HIF)* e *Hypoxia-Response Element (HRE)*, estimulando metabolismo baseado em glicólise anaeróbica nas células tumorais (Chaturvedi, *et al.*, 2013). Investigações mais recentes também apontam a existência de macrófagos associados aos tumores que estimulam o processo de angiogênese por meio de



células tumorais secretoras de lactato, facilitando assim metástases distantes em modelos de tumores de mama do subtipo molecular HER2+ (Linde, *et al.*, 2018).

Contudo, apesar do processo metastático ser considerado agressivo desde o início pelo senso comum, há de se pontuar a existência de um mecanismo de dormência que ocorre com pacientes em início de metástase ou tratados por meio de ressecção/quimio/radioterapia do tumor, definido como micrometástase. A micrometástase ocorre por meio da disseminação residual de células tumorais resistentes a tais terapias e evidências atuais mostram que são originárias de células de estágios iniciais do tumor primário, trazendo a correlação entre micrometástase e plasticidade tumoral (Fluegen, *et al.*, 2017; Harper, *et al.*, 2016).

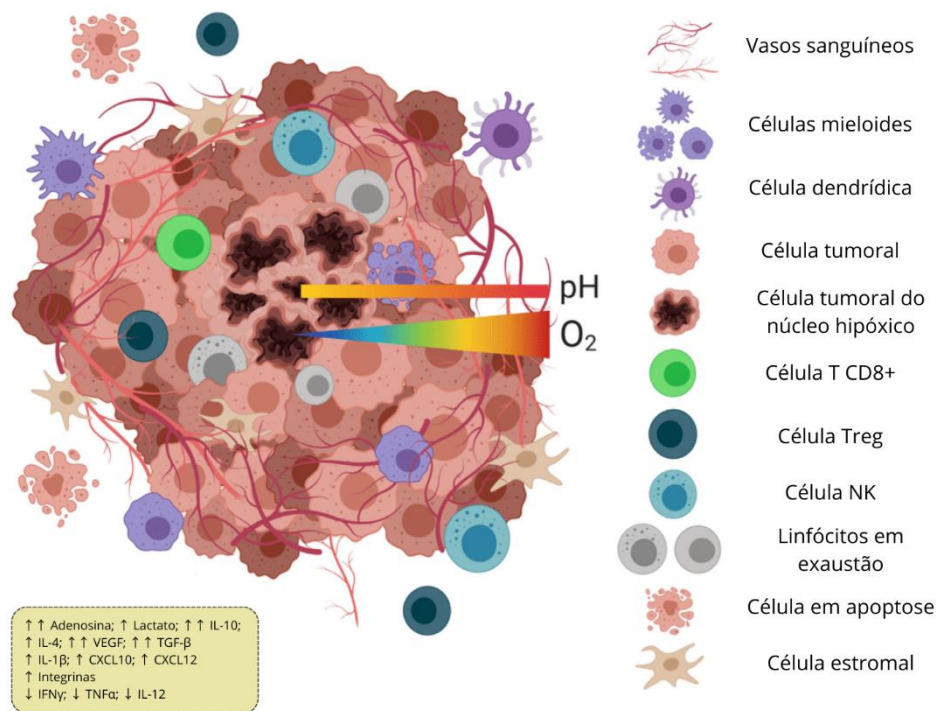
Apesar dos emergentes estudos, ainda é desconhecido ou pouco conhecido os mecanismos moleculares envolvidos neste processo, bem como o porquê células tumorais em dormência podem demorar meses, anos ou décadas para se proliferarem e, quando se proliferam, estabelecem em pouquíssimo tempo um tumor recidivo extremamente agressivo (Suhail, *et al.*, 2019). Achados dos últimos dez anos pontuam a interseção entre dormência e indução de células tumorais por meio de vesículas extracelulares, que podem modular a expressão gênica de genes-chave nos processos de malignidade, como processos regulatórios de supressão do gene *PTEN* por meio de vesículas extracelulares originadas de astrócitos em tumores cerebrais (Zhang, *et al.*, 2015).

De qualquer modo, ambos os mecanismos de angiogênese e metástase estabelecem relações intrincadas com o microambiente tumoral, que estimula a heterogeneidade, plasticidade e efeitos modulatórios que podem tornar o prognóstico associado a tumores altamente pessimista.

## **10. O MICROAMBIENTE TUMORAL**

As células tumorais e o ambiente adjacente à formação neoplásica atuam em conjunto na progressão do tumor. Esse microambiente tumoral é composto por subpopulações celulares diversas, como células estromais, imunes, endoteliais, fibroblastos e adipócitos, além de centenas de moléculas associadas, paradoxalmente, com a inibição e indução da malignidade tumoral (Xiao e Yu, 2021) (Figura 14).

**Figura 14** – O microambiente tumoral e seus componentes



**Fonte:** Fernández, *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, 2019 (Adaptado).

### *Células endoteliais*

As células endoteliais associadas ao tumor desenvolvem mecanismos que vão desde os estágios *in situ* aos invasivos. Entre eles, estão associados os que promovem a secreção de citocinas diversas, ativando receptores presentes nas células tumorais, além de serem importantes na diminuição das respostas citotóxicas de células T circulantes (Yang, *et al.*, 2021).

Outros mecanismos associados se referem à modulação do metabolismo tumoral, por meio de retroalimentação e interação dos seus efetores com fatores parácrinos (Cao, *et al.*, 2014). Trabalhos de *single-cell* RNA-seq desenvolvidos por Tirosh e colaboradores (2016) evidenciaram a relação das células endoteliais associadas ao tumor com a ativação da via *Notch* de sinalização, por meio de marcação de *anidrase carbônica 4* (CA4), trazendo luz à modulação entre estas e fibroblastos presentes no microambiente tumoral, com ação direta das duas populações celulares citadas na angiogênese (Kim, *et al.*, 2020).

## *Fibroblastos*

Os fibroblastos são componentes celulares importantes na regulação homeostática do organismo. Suas funções variam desde resposta mecânica a mudanças fisiológicas como processos associados ao dano e reparo celular (Monteran e Erez, 2019). Contudo, no microambiente tumoral, essas funções são desenvolvidas unicamente para facilitar a progressão cancerosa (Dvorak, 1986).

Neste contexto, os fibroblastos, chamados de fibroblastos associados ao tumor, desenvolvem inúmeros processos modulatórios que garantem a efetividade maligna da neoplasia, não somente devido a serem o principal componente celular do microambiente, mas por serem efetores convergentes no mau prognóstico de dezenas de tipos de tumores, com biomarcadores associados a resistência terapêutica e recidiva da doença (Calon, *et al.*, 2015).

Diferenciação, proliferação e crescimento celular neoplásico estão intrinsecamente associados a liberação de fatores por fibroblastos, situação que envolve a imunossupressão realizada pelos mesmos na função de células imunes inatas e adaptativas (Hesketh, *et al.*, 2017), sobretudo por estimular a liberação de várias citocinas pró-inflamatórias, como *Interferon-Gama (IFN- $\gamma$ )*, *Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ )* e *Interleucina-1 (IL-1)* que, por sua vez, suprimem a função de vários tipos de linfócitos T (Ren, *et al.*, 2008).

## *Adipócitos*

Os adipócitos possuem atuação principalmente em tumores presentes em tecidos como mama, e órgãos relacionados a cavidade abdominal, como os tumores do trato gastrointestinal. Sua função nestes microambientes específicos se vincula a modificação intensa do metabolismo da região, promovendo o crescimento neoplásico (Nieman, *et al.*, 2013). Mecanicamente, o crescimento citado é devido a captação dos recursos metabólicos das células adipócitas, como ácidos graxos de cadeia longa, para utilização catabólica, por meio de  $\beta$ -oxidação, aumentando assim a taxa de ATP para proliferação desenfreada das células tumorais (Duman, *et al.*, 2019).

Além disso, a obesidade, desencadeada por fatores ambientais e/ou genéticos, é considerada como um exponencial fator de risco para o desenvolvimento de tumores endometriais e de mama (Kahn, Wang e Lee, 2019), devido a hipertrofia e disfunção hormonal relacionadas aos adipócitos presentes nessas estruturas. Vias de sinalização que apresentam modulação por citocinas e fatores de crescimento em adipócitos, como *Interleucina-6 (IL-6)*,

Tumor Growth Factor Beta (TGF- $\beta$ ) e VEGF, em conjunto do aumento da expressão de leptina e diminuição da expressão de adiponectina, desencadeiam tumorigênese e a progressão tumoral inicial (Crewe, Na e Scherer, 2017; Mukherjee, Bilecz e Lengyel, 2022).

### *Células do Sistema Imune*

As células do sistema imune inato e adaptativo podem desencadear, concomitantemente, funções contrapostas no microambiente tumoral, sendo assim denominadas como células imunes antagonistas de tumores (TaICs) e células imunes promotoras de tumores (TcICs) (Lei, *et al.*, 2020).

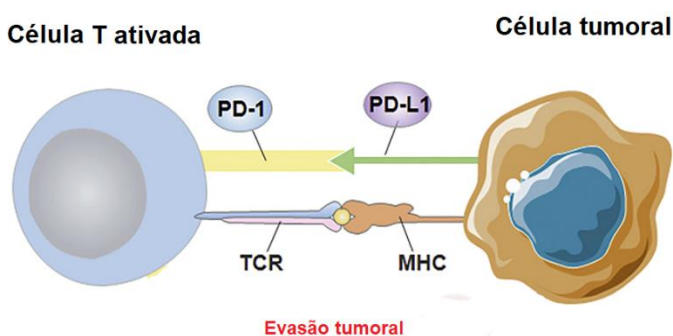
As principais TaICs são da família dos Linfócitos T, como células T CD8+, CD4+ e células T citotóxicas, além de células *Natural Killers* (NKs), macrófagos e neutrófilos (Lei, *et al.*, 2020). Suas ações efetoras são diversas. Células T, de modo geral, atuam na liberação de citotoxinas e na indução apoptótica tumoral via FasL; as NKs, por sua vez, atuam através da identificação de sinais inflamatórios provenientes da neoplasia e do microambiente tumoral, desencadeando mecanismos apoptóticos por liberação de proteínas citotóxicas como a granzima e a perforina (Voskoboinik, Smyth e Trapani, 2006); enquanto os macrófagos e neutrófilos atuam por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (macrófagos polarizados-M1) e redes neutrofílicas extracelulares (Aras e Zaidi, 2017; Narayanan, *et al.*, 2018; Kolaczowska e Kubes, 2013).

Enquanto isso, as principais promotoras neoplásicas, como células T regulatórias (Tregs) e células supressoras derivadas de células mieloides (*Myeloid-derived suppressor cells*, MDSCs), atuam tanto na inibição da ação de células T citotóxicas (Tregs) quanto na indução da angiogênese através da produção de metaloproteinases, atuantes na degradação de MEC, e na produção de VEGF (MDSCs) (Lei, *et al.*, 2020; Kim, Rasmussen e Rudensky, 2007; Wolf, *et al.*, 2015).

Contudo, o universo das células do sistema imune e suas ações relacionadas a tumores ainda é pouco compreendido, no que concerne a sua complexidade. Mecanismos de evasão compreendem um importante fator na progressão tumorigênica como, por exemplo, o eixo PD-1/PDL-1, no qual a ação das células T citotóxicas é inibida por ligação de sua proteína de verificação PD-1 no receptor PDL-1 presente em células tumorais (Ebner, *et al.*, 2017); além de diversas contraposições de funções que células antagonistas podem desempenhar na progressão do tumor, como a exaustão de células T por persistência antigênica localizada

(Zheng, *et al.*, 2017), limitação da ação de NKs por expressão de fatores inibidores de *checkpoints* imunológicos (Guillerey, Huntington e Smyth, 2016), e ação controversa das células B, influenciando diretamente a progressão tumoral por meio de indução da angiogênese através de fatores pró-angiogênicos e inibindo funções das células T citotóxicas (Tsou, Katayama e Hanash, 2016) (Figura 15).

**Figura 15** – Mecanismo de evasão tumoral via eixo PD-1/PDL-1



Fonte: Xu, *et al.*, *Molecular Therapy*, 2021.

## 11. TRATAMENTOS CLÁSSICOS E EMERGENTES EM TUMORES

Por se tratar de um conjunto de doenças por muitas vezes distintas entre si, o tratamento de cânceres sempre foi um desafio para a clínica médica. Os processos de ressecção de tumores sólidos já existiam desde a antiguidade, mesmo que com pouca eficácia, mas foi a partir do século XX que técnicas mais acuradas de cirurgia e o uso de agentes radio e quimioterápicos passaram a ser o carro-chefe no âmbito médico (Arruebo, *et al.*, 2011), por meio de descobertas um tanto quanto inusitadas como, por exemplo, o uso de gás mostarda na morte de células tumorais, evidenciado por análises citológicas que apontavam leucopenia em soldados ativos na Primeira e Segunda Guerras Mundiais (Goodman, *et al.*, 1946).

O estudo de agentes alquilantes, a partir daí, foi amplamente realizado, com o surgimento de drogas até hoje utilizadas, como a ciclofosfamida, metotrexato e mercaptopurinas, tanto no tratamento de tumores sólidos como em neoplasias sanguíneas (Hitchings e Elion, 1954).

Em conjunto as descobertas relacionadas ao uso efetivo de radioterapia no controle de micrometástases, na década de 60 e 70, surgem as terapias adjuvantes para cânceres, sobretudo por meio do uso de cisplatina e vimblastina, agentes moleculares com funções análogas aos

alquilantes que, por meio de interação genômica e inibição da ação dos microtúbulos no ciclo celular, respectivamente, inibem a proliferação de células tumorais (Starling, 1976; Einhorn e Donohue, 1979).

Com a escalada de inovação tecnológica no final do século XX, as técnicas clássicas de tratamento tumoral sofreram inúmeras remodelações. O uso de radioterapia convencional ainda é muito utilizado, por exemplo, mas técnicas acopladas de identificação da movimentação e posição tumoral em 4D passou a ser empregado, de modo a diminuir substancialmente o efeito em células saudáveis adjacentes, também afetadas pelo tratamento (Timmerman e Xing, 2010).

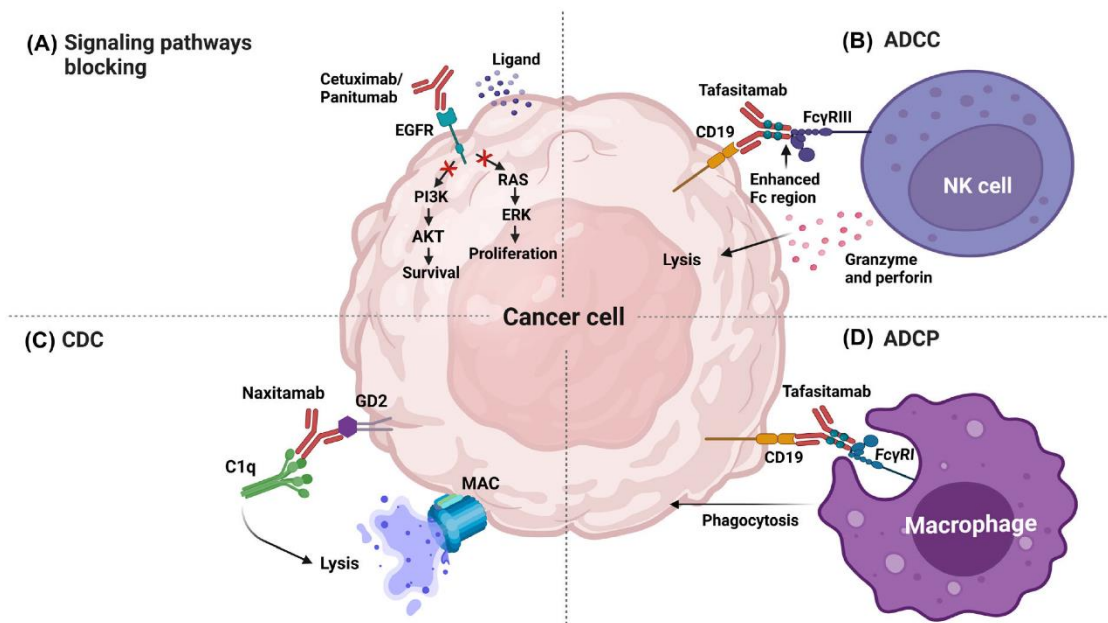
Atualmente, várias técnicas avançadas são utilizadas para tratamento de tumores, entre elas a imunoterapia, a terapêutica baseada em nanoestruturas e a terapia via *CAR-T Cells*, compondo assim a vasta área de terapias alvo-específicas, característica por viabilizar tratamentos personalizados para cada tipo de tumor diferente.

### *Imunoterapia*

O uso de anticorpos no tratamento de tumores é relativamente recente, mas tem sua origem na década de 70, quando Milstein e Köhler desenvolvem a tecnologia de produção de anticorpos monoclonais (Köhler e Milstein, 1975). Seu uso na terapia humana contra cânceres é extremamente eficaz, considerando o nível de especificidade atingido, quando comparado a técnicas clássicas. Tal feito só é possível por meio do estudo do tipo do tumor a ser tratado, com identificação de suas especificidades moleculares.

São mais de 100 anticorpos aprovados e utilizados em tratamento de tumores em poucos mais de 30 anos de investigação biomédica. Estes podem ser classificados de acordo com seu mecanismo efetor, geralmente delimitados em (i) anticorpos inibidores de vias de sinalização (SPB); (ii) anticorpos dependentes de ação celular citotóxica (ADCC); (iii) anticorpos dependentes de ação do Sistema Complemento (CDC) e; (iv) anticorpos dependentes de fagocitose (ADCP) (Rodríguez-Nava, *et al.*, 2023) (Figura 16).

**Figura 16** – Mecanismos efetores na destruição das células tumorais via anticorpos monoclonais



Fonte: Rodríguez-Nava, *et al.*, *Biomedicines*, MDPI, 2023.

Entre os principais SPBs estão o cetuximabe e o panitumumabe, que agem por meio de inibição competitiva do receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) e por ação antagonista, induzindo a internalização de EGFR, respectivamente (Dubois e Cohen, 2009). Já entre os ADCC, têm-se representantes como o loncastuximabe, dirigido especificamente ao antígeno CD19 expressos predominantemente em células B, sendo um excelente imunoterapêutico para o tratamento de linfomas (Zinzani e Minotti, 2022).

A ativação da via clássica do complemento pode ser realizada por imunoterápicos da classe dos CDCs, como o rituximabe, atuante, por meio de processos sinérgicos entre ADCC e CDC, em células B tumorais, via ligação imunoterápico/CD20 (Taylor e Lindorfer, 2016; MabThera, Roche Químicos e Farmacêuticos (bula), 2020). Já o daratumumabe, imunoterápico da classe dos ADCPs, atua em processo que vinculam as outras três classes, promovendo fagocitose por meio da produção de IFN- $\gamma$  (Nooka, *et al.*, 2019).

Outros imunoterápicos emergentes que estão sendo muito utilizados nos últimos 10 anos são os voltados a inibição de duas principais vias de evasão tumoral: a do eixo PD-1/PDL-1 (pembrolizumabe e atezolizumabe, respectivamente) e a via de *checkpoint* imunológico CTLA-4 (ipilimumabe), sendo esta última via caracterizada pela inibição das ações citotóxicas

de linfócitos T por interação com seus ligantes (CD80 e CD86) presentes em células apresentadoras de antígenos (Coillie, Wiernicki e Xu, 2020). A inibição destes ligantes, assim, impede os mecanismos de evasão tumoral, proporcionando resposta imunológica adequada para a debelação da célula cancerosa.

### *Terapêutica baseada em nanoestruturas*

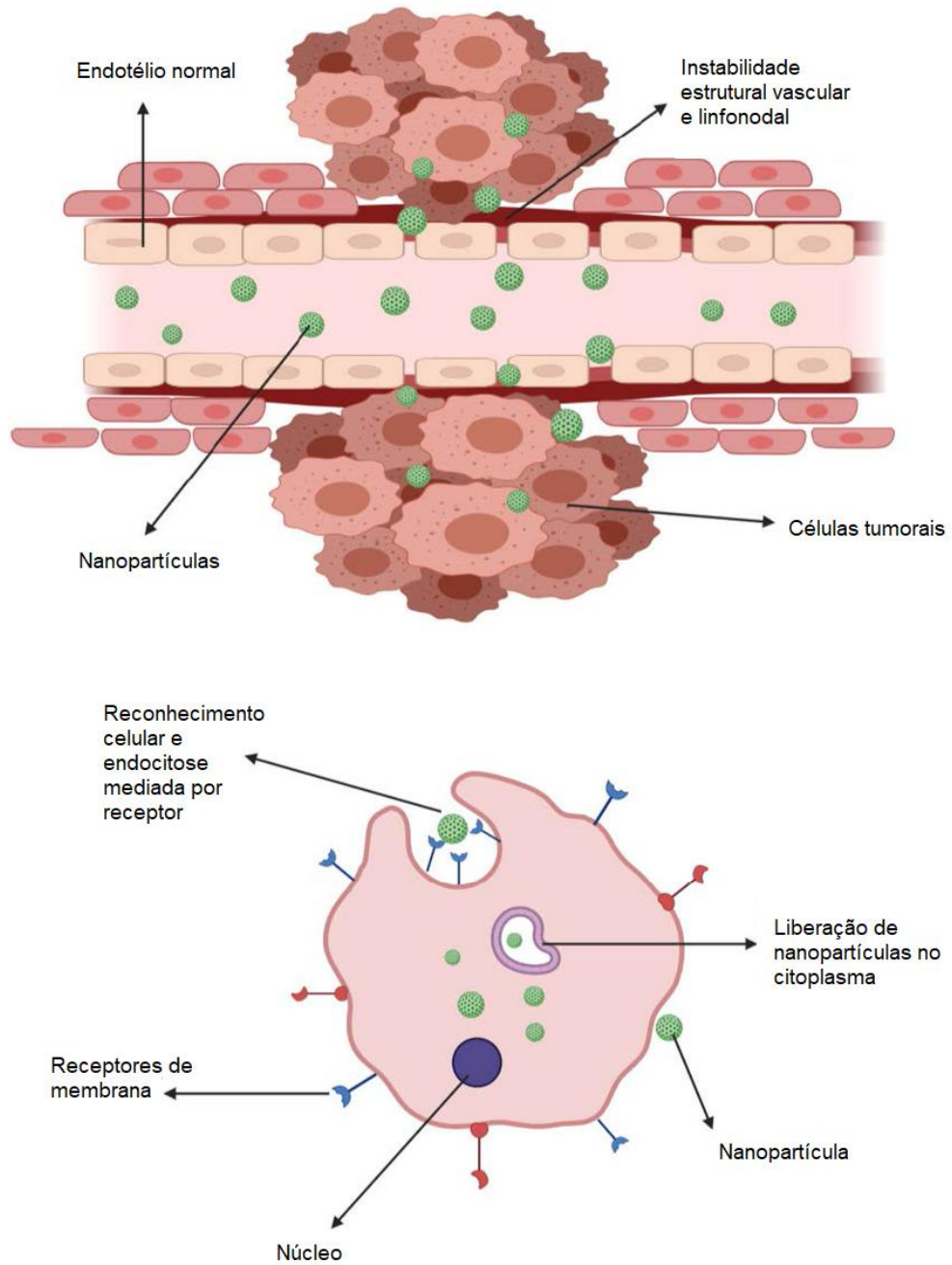
A terapêutica baseada em nanoestruturas pode ser definida como o uso de nanopartículas desenvolvidas para o envio efetivo de drogas e quimioterápicos antitumorais aos sítios específicos do tumor, tanto no microambiente tumoral quanto nas próprias células cancerosas.

As nanopartículas atuais possuem uma complexidade inata, correspondente a estrutura de sua camada superficial, seu núcleo, raio e especificidade relacionada ao sistema de envio. Geralmente seguem um caminho *bottom-up* ou *top-down* de desenvolvimento, ou seja, construídas do átomo ao *cluster* final ou por redução destrutiva de um pré-material utilizado, respectivamente (Yang, *et al.*, 2014; Shafey, 2020).

As nanopartículas utilizadas para envio de moléculas a tumores possuem, em média, uma amplitude de 10 – 100 nm de diâmetro e são separadas de acordo com seu mecanismo de alvo celular (Figura 17). O mecanismo passivo está associado à permeabilidade do microambiente tumoral, vital para o estabelecimento de agregados macromoleculares que, por sua vez, são importantes para terapias-alvo generalizadas, associadas com processos clássicos de todos os tipos de tumores, como proliferação, migração e invasão celular. Já o mecanismo ativo possui maior relação com o envio de nanoestruturas complexadas com moléculas específicas que atuam em sítios tumorais também específicos, sendo a nanopartícula apenas uma estrutura possuinte de ótima ligação a célula tumoral, com alta relação ligação/penetração da droga complexada (Peer, *et al.*, 2007) (Figura 18).



**Figura 17** – Mecanismos passivo e ativo de alvo celular de nanopartículas

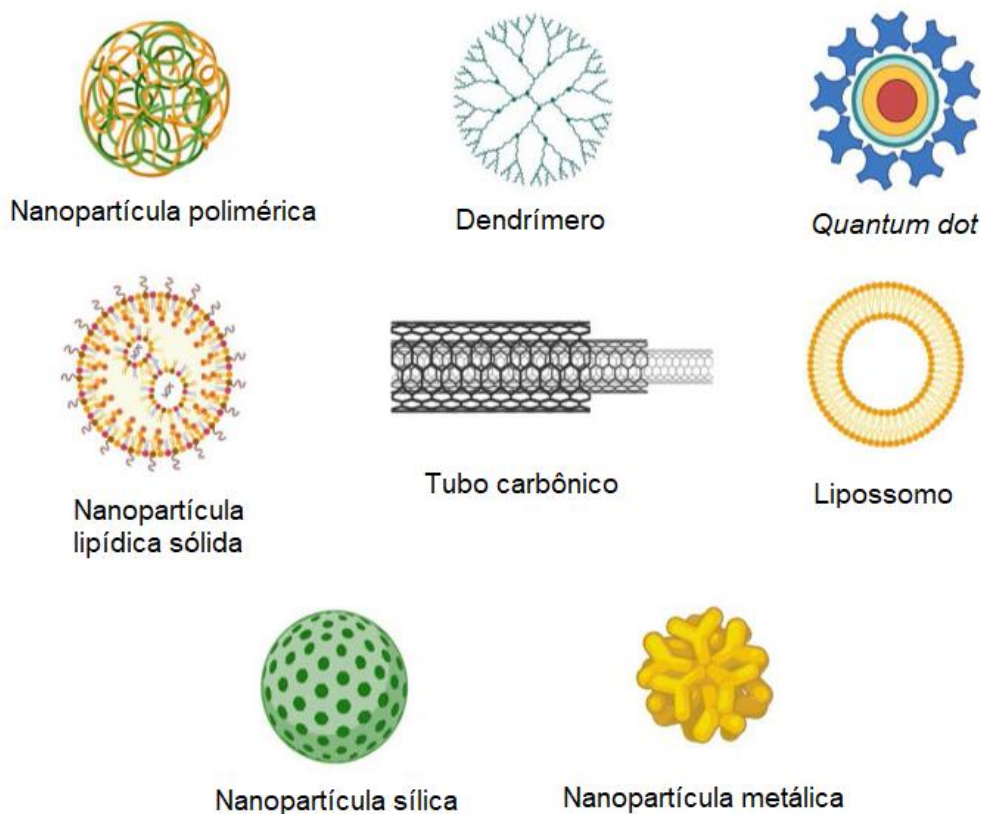


**Fonte:** Gavas, Quazi e Karpiński, 2021.

Os taxanos são grandes exemplos de nanoestruturas de mecanismo passivo de *targeting*. O Abraxane<sup>®</sup>, medicamento da empresa *Bio-Sciences*, atua, por exemplo, impedindo a reorganização de microtúbulos durante o ciclo celular, inviabilizando assim, a proliferação de células tanto do microambiente tumoral quanto das próprias células tumorais. Sua estrutura é originada por meio do seu princípio ativo, Paclitaxel, complexado à albumina e já é utilizado

em diversos cânceres, como os de mama, ovarianos e pulmonares (Lim, Chung e Chung, 2018). Já no caso de nanoestruturas de mecanismo ativo de *targeting*, pode-se citar as nanopartículas de ouro com anti-EGFR complexadas com Polietilenoglicol (PEG), para carcinomas de células escamosas e o *Herceptin*<sup>®</sup>, um medicamento para tumores de mama do subtipo molecular HER2+ principalmente, composto por antraciclina associada à PEG que desencadeiam instabilidades na síntese genômica e geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), com consequente morte celular (Jiang, *et al.*, 2008; Reuveni, *et al.*, 2011).

**Figura 18** – Nanoestruturas utilizadas em entrega de drogas anti-tumorais



**Fonte:** Gavas, Quazi e Karpiński, 2021 (Adaptado).

As nanoestruturas podem ter composição variada, de acordo com o diâmetro e alvo pretendido, como listado na Tabela 4 abaixo:

**Tabela 5** – Nanoestruturas utilizadas atualmente no envio de drogas anti-tumorais

Nanoestrutura	Composição	Característica
Nanopartícula polimérica	Em desuso: Poliacrilamida, Polimetilmetacrilato Em uso: Ácido Polilático, Quitosana, Alginato, Albumina	Liberação controlada da droga atracada na estrutura exterior ou presente no núcleo da nanopartícula
Dendrímero	Poli-amidoamina (PAMAM), Polietilenoglicol (PEG), Polipropilenimina (PPI), Trietanolamina (TEA)	Associação da droga a superfície funcional ou ao núcleo dendrímérico para liberação citoplasmática
<i>Quantum dot</i>	Semicondutores baseados em carbono (grafeno, nanodiamantes, <i>carbon quantum dots</i> )	Envio de <i>small interfering RNAs</i> por <i>dopping</i> químico
Nanopartícula lipídica sólida	Estrutura coloidal de fosfolipídios	Entrega de drogas encapsuladas em seu núcleo não aquoso
Tubo carbônico	Grafeno, fulerenos, grafino	Entrega de drogas controlada por endocitose dos tubos no ambiente citoplasmático tumoral
Lipossomo	Vesículas fosfolipídicas uni ou multilamelares	Entrega controlada de drogas com baixa promoção imunogênica
Nanopartículas sílicas	Aminossilicanos	Entrega controlada via associação droga/nanoporos
Nanopartículas metálicas	Ouro, Prata, Ferro, Cobre	Encapsulamento de terapêuticos em <i>nanoshells</i>

**Fonte:** Gavas, Quazi e Karpiński, *Nanoscale Res. Lett.*, 2021; Zhao, *et al.*, *Appl. Nanosci.*, 2020; Devi, *et al.*, *Front. Mater.*, 2022; Abbasi, *et al.*, *Nanoscale Res.Lett.*, 2014.

Em suma, apesar dos grandes desafios ainda enfrentados na utilização de nanoestruturas, sobretudo no que concerne a administração adequada das mesmas no sistema fisiológico humano, otimização de entrega das drogas e toxicidade, é claro sua poderosa ação nos tratamentos antitumorais, trazendo à área oncológica uma emergência para se estabelecer o estado da arte atual da técnica.

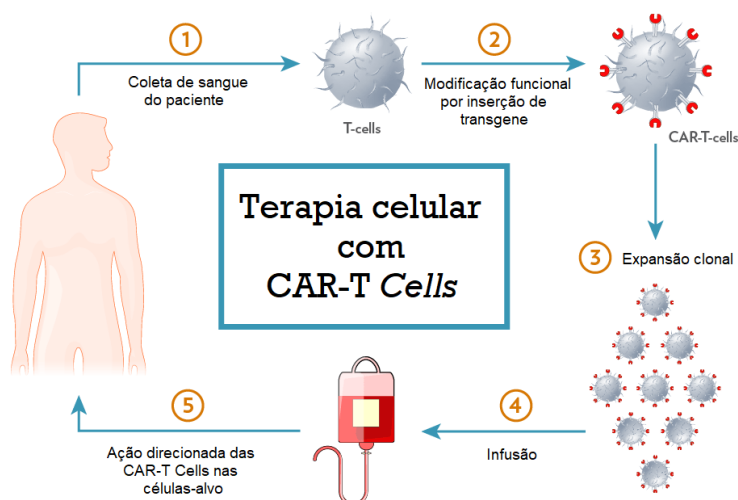
### *CAR-T Cells no tratamento de câncer*

A Terapia Celular com *Chimeric Antigen Receptors T-Cells (CAR-T Cells)* emergiu como uma revolução paradigmática no cenário oncológico, oferecendo uma perspectiva inovadora para enfrentar tumores refratários. Ao reprogramar geneticamente as células T do próprio paciente, essa terapia proporciona uma resposta imune especificamente direcionada às células malignas, marcando uma mudança radical na abordagem terapêutica.

Sua base tecnológica envolve a produção de antígenos quiméricos associados as células T, geralmente por meio de ensaios funcionais de inserção transgênica (Kebriaei, *et al.*, 2016). A estrutura desses receptores sintéticos deve seguir um protocolo muito estrito, com a presença de quatro componentes principais no receptor antigênico: um domínio de ligação antigênico extracelular, uma região *hinge*, um domínio transmembrana e domínios de sinalização intracelular (Sternier e Sternier, 2021) (Figura 19).

O escopo da tecnologia está na interação específica do antígeno quimérico com proteínas expressas predominante ou exclusivamente em tumores, tornando assim essa terapia celular uma das mais proeminentes dos últimos anos.

**Figura 19** – Fluxograma da aplicação da Terapia Celular com *CAR-T Cells*



**Fonte:** Medical University of South California, 2021.

Até a presente data, já são 6 tratamentos baseados em *CAR-T cells* aprovados pela *Food and Drugs Administration* (FDA) nos EUA, sendo eles:

- Kymriah (tisagenlecleucel – aprovado também pela ANVISA, no Brasil): indicado para pacientes portadores de leucemia linfoblástica aguda, linfomas de células B e linfomas foliculares, com receptor antigênico quimérico para CD19;
- Yescarta (axicabtagene ciloleucel – aprovado também pela ANVISA, no Brasil): indicado para pacientes portadores de linfoma de células B e linfomas foliculares, com receptor antigênico quimérico para CD19;
  - Tecartus (brexucabtagene autoleucel): indicado para pacientes portadores de linfoma de células do manto e leucemia linfoblástica aguda, com receptor antigênico quimérico para CD19;
  - Breyanzi (lisocabtagene maraleucel): indicado para pacientes portadores de linfomas de células B, com receptor antigênico quimérico para CD19;
  - Abecma (idecabtagene vicleucel): indicado para pacientes portadores de mieloma múltiplo, com receptor antigênico quimérico para BCMA;
  - Carvykti (citacabtagene autoleucel – aprovado também pela ANVISA, no Brasil): indicado para pacientes portadores de mieloma múltiplo, com receptor antigênico quimérico para BCMA.

Apesar do grande avanço tecnológico e terapêutica proeminente, a terapia com *CAR-T Cells* ainda apresenta algumas limitações, sobretudo vinculadas às respostas citotóxicas agudas

pós-administração em pequenos subgrupos de paciente, limitações de cunho molecular, como escape antigênico e ligações *off-target*, ou seja, ligação inespecífica em células saudáveis, efeitos associados à supressão de sua função pelo microambiente tumoral, e custo: atualmente a terapia com CAR-T *Cells* pode custar mais de um milhão de dólares nos EUA (Goddell, 2023). Contudo, o avanço da técnica possibilita perspectivas excelentes para driblar tais problemáticas, sobretudo com o avanço das gerações de CARs, reduzindo assim os efeitos citotóxicos e aumentando sua especificidade (Young, *et al.*, 2022). Nas questões vinculadas ao valor da terapia, iniciativas brasileiras vinculadas ao SUS, por meio do desenvolvimento do Núcleo de Terapia Celular Avançada da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (NUTERA/FMUSP-FMRPUSP), em parceria com o Instituto Butantan, visam a produção em larga escala de terapias CAR-T *Cells* de modo a diminuir os custos do tratamento em mais de 90% em valor absoluto, viabilizando a universalidade da terapêutica (Butantan, 2023).

## 12. O PAN-CÂNCER COMO OBJETO DE ESTUDO

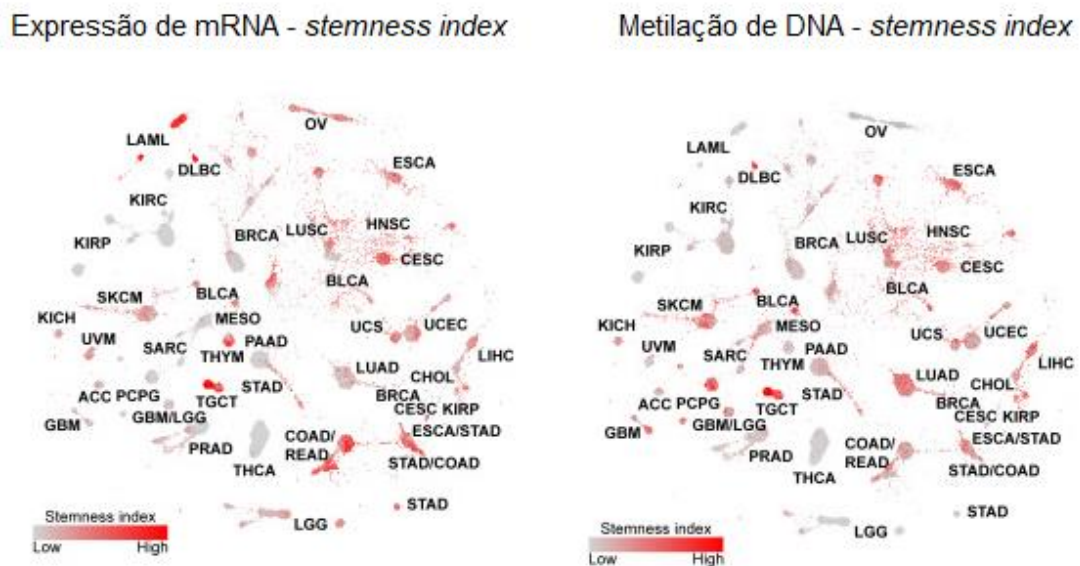
Como brevemente colocado na fundamentação elaborada no presente trabalho, mesmo com todas as divergências estabelecidas no que concerne ao câncer, e seu estabelecimento como um grupo heterogêneo de patologias, suas convergências podem fornecer um panorama tão complexo e rico quando seu estudo individualizado. Muitos trabalhos nos últimos 20 anos ajudaram a moldar a perspectiva do que hoje se denomina como pan-câncer, contudo, foi a iniciativa do Consórcio *Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes*, a partir da publicação seminal na *Nature* “*Pan-cancer analysis of whole genomes*” que elevou a análise ao seu maior *status* na área científica, com iniciativas concomitantes da *CellPress*, por meio do Consórcio *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) (com apoio do *National Cancer Institute* e *National Human Genome Research Institute*), nas análises do câncer a partir de uma perspectiva de origem convergente da célula tumoral, de seus padrões moleculares existentes entre tipos diferentes de tumores, processos oncológicos associados, vias de sinalização relacionadas e ao estado da arte acerca das modificações genéticas e epigenéticas que levam ao aparecimento dos tumores em humanos.

### *Padrões Cell-of-Origin em tumores*

*Cell-of-origin* é uma denominação estabelecida para denotação dos padrões genômicos que uma célula inicial sofre em sua transformação maligna. Em uma análise pan-câncer, o estudo de origem é vital para determinação de *clusters* com modificações associadas entre tumores, no que concerne a aneuploidias existentes, hipermetilação do DNA, expressão transcricional de genes codificadores e não codificadores de proteínas, expressão transcricional de microRNAs e expressão proteica (Hoadley, *et al.*, 2018). Em análises realizadas por Hoadley e colaboradores (2018), com 10000 amostras tumorais, se evidenciou uma heterogeneidade característica relativa a aneuploidia, com separação dos 33 tipos de tumores analisados em 10 *clusters* diferentes, com evidência distinta para os que apresentavam maior índice de aneuploidia. No que concerne a alterações epigenômicas, mais de 3000 amostras tumorais apresentaram hipermetilação em ilhas CpG, formalizando 25 *clusters* com similaridades entre as posições de metilação, sugerindo que o mecanismo epigenômico está diretamente associado com populações celulares similares e controlado por programas de transcrição pré-existentes. As análises de mRNA, por sua vez, obtiveram resultados interessantes no que diz respeito a expressão de genes associados com processos de tumorigênese. Células com morfologia análoga possuem potencial transcricional semelhante, se comparadas a células com morfologias e origens mais distintas. Já para microRNAs, os resultados são mais heterogêneos, o que sugere uma integração mais efetiva entre tumores longínquos (Hoadley, *et al.*, 2018).

A partir de cálculos euclidianos, também foi realizada análises de sistemas e órgãos considerando processos histopatológicos, análises de subtipos imunes envolvidos no microambiente tumoral, expressão de mRNA e metilação genômica considerando o *stemness* celular, mostrando relações inversamente proporcionais entre tumores que superexpressam genes correlacionados ao processo tumorigênico e aqueles que sofrem de hipermetilação em sítios análogos do DNA (Hoadley, *et al.*, 2018) (Figura 20).

**Figura 20** – Relação entre expressão transcricional e metilação genômica em diferentes tipos de tumores a partir de *stemness index*



Fonte: Hoadley, *et al.*, *CellPress*, 2018.

### *Processos oncogênicos*

A associação dos processos oncogênicos viabiliza tanto um estudo mais acurado acerca do tipo de modificação existente entre os diferentes tipos de tumor quanto a emergência da integração de drogas associadas com processos anti-tumorais, como proliferação, migração e invasão celular. Em 2018, Sanchez-Vega e colaboradores trouxeram à tona, utilizando-se dos dados do TCGA, uma análise criteriosa que estabeleceu relações mecânicas entre dez vias clássicas estudadas na oncologia.

As análises mostraram diversos resultados interessantes, como:

- A alta média de alterações na via de sinalização RTK-RAS entre todos os tipos de tumores analisados, totalizando 46% das amostras estudadas;
- O gene *KRAS* sendo o mais frequentemente alterado (9% das amostras);
- Alterações no gene *BRAF* em mais de 50% das amostras de melanomas e carcinomas de tireoide;
- Relações sinérgicas entre diferentes vias em diferentes tipos de tumor, com influência direta nas alterações umas das outras.



Thorsson e colaboradores (2018) trouxeram à luz a influência do sistema imune no estabelecimento de tumores. Em uma análise extensa dos dados do TCGA, com 33 tipos de tumores para tal, foram encontrados seis *clusters* que determinaram a classificação de seis subtipos de ações imunes no ambiente neoplásico: *wound healing*, IFN- $\gamma$  dominante, inflamação, depleção linfocítica, silenciamento imunológico e TGF- $\beta$  dominante. Essas análises foram realizadas por meio do estudo de marcações de diferentes populações do sistema imune inato e adaptativo, explorando também contextos de heterogeneidade das populações imunes nos diferentes tipos de tumores, presença de aneuploidias, e expressão e co-expressão de genes modulatórios.

A separação dos tipos de ações imunes foi determinada a partir de 160 assinaturas imunes presentes nas populações analisadas, com resultados principais disponibilizados na Tabela 5 abaixo:

**Tabela 6** – Tipos de ações imunes em tumores

<b>Ação imune</b>	<b>Processos vinculados</b>	<b>Tumores associados</b>
<i>C1 – Wound healing</i>	↑ Expressão genes angiogênicos ↑ Taxa proliferativa	Adenocarcinoma colorretal Tumor de mama Luminal A Carcinoma de cabeça e pescoço
<i>C2 – IFN-<math>\gamma</math> dominante</i>	Polarização de macrófagos acentuada ↑ sinal de CD8 Diversidade aumentada de TCRs	Tumores de mama Tumores gástricos Tumores ovarianos Carcinoma de cabeça e pescoço Tumores cervicais
<i>C3 – Inflamação</i>	↑ Th17 ↑ Th1 ↓ aneuploidia ↓ proliferação tumoral	Tumores renais Adenocarcinoma prostático Adenocarcinoma pancreático Carcinoma de tireoide

C4 – Depleção linfocítica	Supressão de Th1	Carcinoma adrenocortical Paraganglioma Carcinoma hepatocelular Gliomas
C5 – Silenciamento imunológico	↓ Resposta linfocítica ↑ Resposta Macrofágica ↑ Ilhas CpG metiladas	Gliomas
C6 – TGF- $\beta$ dominante	↑↑ TGF- $\beta$ ↑ Infiltrado linfocítico	Difuso e não dominante em nenhum subtipo tumoral presente no TCGA

Fonte: Thorsson, *et al.*, *Immunity*, CellPress, 2018.

Os dados obtidos sugerem, sobretudo, a associação das ações imunes com a sobrevivência populacional para os tipos de tumores, além das relações de escape imunológico presentes nos diferentes microambientes tumorais associados. Outro fato interessante é que tumores com fatores dominantes (C2 e C6) se mostraram diversos em seu repertório de receptores de linfócitos B e T (TCRs e BCRs), apresentando assim uma resposta mais efetiva contra o ambiente tumoral, diferente de outros contextos (C1, C3, C4, C5), que possuem características de promoção da evasão tumoral e inflamação tecidual (Thorsson, *et al.*, 2018).

Já a partir dos dados analisados pela iniciativa do Consórcio *Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes*, tem-se resultados que correlacionam muito mais a questão das mutações somáticas como fatores importantes no desencadeamento de tumores. As análises realizadas evidenciaram mais de 43 milhões de alterações somáticas, 2,4 milhões de *indels* somáticos e 19,4 mil eventos de retrotransposição ocorrentes na somatória dos dados (*The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium*, 2020).

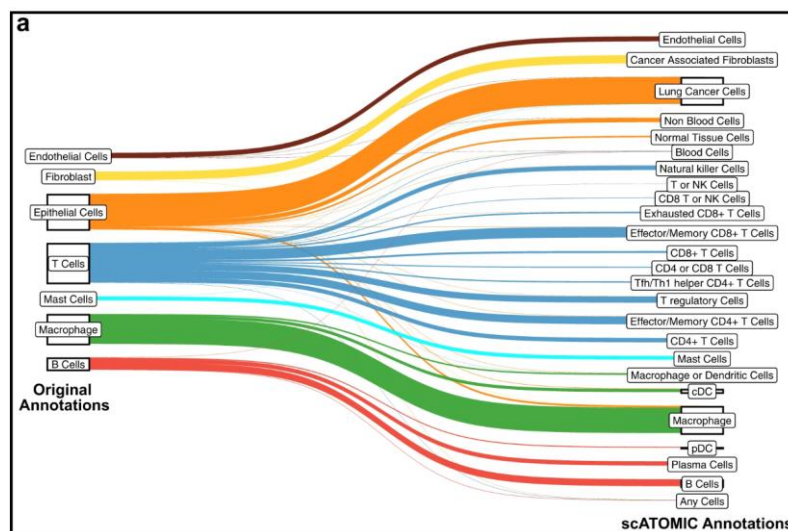
Entre os resultados obtidos, elenca-se os de maior interesse na pesquisa biomédica e clínica:

- A inativação dupla dos alelos em *TP53* desencadeia instabilidade em genes supressores de tumor;
- A existência de três processos associados a reconfiguração genômica no surgimento de tumores: cromoplexia, *kataegis* e cromotripsia.

A cromoplexia, processo no qual há reorganização inadequada de DNA por meio de mecanismos de reparo, entre cromossomos diferentes, foi identificada em mais de 17% das amostras, sobretudo em tumores como adenocarcinomas prostáticos e tumores linfoides. O *kataegis*, processo no qual é observado sítios definidos caracterizados por hipermutações gênicas, foi encontrado em mais de 60% dos tumores, com foco em carcinomas pulmonares, tumores de bexiga, melanomas e sarcomas. Já a cromotripsia, definida pela fragmentação extensiva de um cromossomo em pequenos fragmentos seguida pela reorganização e religação aleatória desses, teve ocorrência em 22% do total de amostras, com maior associação em sarcomas, glioblastoma e adenocarcinoma mamário (*The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium, 2020*).

O estudo do microambiente tumoral também é característico do pan-câncer. Sua heterogeneidade estabelece um desafio notável, contornado por meio do uso de *single-cell RNA-Seq*, em um excelente trabalho de Nofech-Mozes e colaboradores (2023). A partir do estudo de mais de 300 mil células correlacionadas ao microambiente tumoral em 19 tipos mais comuns de tumores, utilizando-se para tal ferramentas Biocomputacionais de *Machine Learning* comparativo, foram obtidas informações de expressão diferencial de genes nas células tumorais e do ambiente adjacente relacionado, possibilitando inicialmente o desenho de mapas de células/tipos de tumores, vitais para o estabelecimento da origem tecidual dos tumores estudados e uma ampliação dos mapas de interação celular relacionados a tumores (Nofech-Mozes, *et al.*, 2023).

**Figura 21** – Relações células/tumor originais vs. Relações estabelecidas por *Machine Learning*



Fonte: Nofech-Mozes, *et al.*, *Nature*, 2023.

Um exemplo notório visto traz luz e mais indagações sobre os diferentes tipos de classificações dadas aos tumores já muito estudados, como os tumores de mama. A classificação por subtipo molecular em mama apresenta 4 subtipos principais, denominados Luminal A, Luminal B, HER2+ e *Basal-Like*, cada um destes apresentando expressão significativa de receptores hormonais ou HER2+ (Luminal A, Luminal B e HER2+) ou expressão insignificante dessas proteínas (*Basal-Like* – Triplo-negativo). Contudo, a partir das análises dadas por *Machine Learning* se evidencia a existência de diversificação celular até mesmo em subtipos moleculares já estabelecidos, ou seja, um paciente com tumor triplo-negativo, por exemplo, pode apresentar em seu ambiente tumoral, uma porcentagem celular tumoral que não representa a classe determinada, dificultando assim a terapêutica a ser utilizada. As implicações desses resultados reverberam no tratamento de cânceres refratários e de câncer desenvolvidos por recidiva de tumores primários, carecendo estudos mais profundos na área.

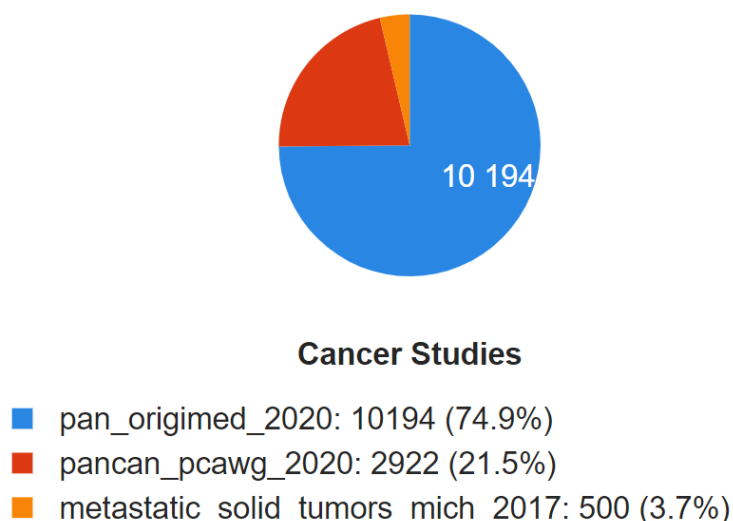
Uma outra determinação clássica colocada em xeque por estudos pan-câncer é a de determinação de *drivers* tumorais relacionados apenas com genes codificadores de proteínas. É amplamente estabelecido a correlação de diversos oncogenes e genes supressores de tumor em vias de sinalização que viabilizam o processo tumorigênico em diferentes tipos de tumor, como os vinculados aos genes PT53, BRCA, PTEN, MYC entre outros. Contudo, o estudo sistemático das regiões gênicas não codificadoras de proteínas apresenta também dados de grande interesse clínico. O trabalho de Rheinbay e colaboradores (2020), utilizando-se dos dados do PCAWG de mais de 2500 amostras de 27 tipos tumorais identificaram mais de 520 regiões genômicas não codificadoras de proteínas que potencialmente estão envolvidas no *driving* tumorigênico, entre elas as regiões denominadas TOB1 (região reguladora de proliferação por associação com o gene ERBB2), WFIKKN2 (posição de vizinhança ao TOB1 com funções análogas, em tumores de mama) e em regiões exônicas e promotoras do *non-coding RNA* RMRP, este último com distribuição ubíqua em dezenas de tipos tumorais (Rheinbay, *et al.*, 2020).

Em suma, evidencia-se a importância de estudos de pan-câncer devido a complexidade inata das neoplasias com inúmeros mecanismos regulatórios e modulatórios. A emergência do estudo convergente de tumores, assim, estabelece-se como um novo ponto de partida para a clínica médica, voltada a melhora da rapidez para determinação de diagnósticos, predição e melhora de prognósticos e estabelecimento de terapias cada vez mais individualizadas, primordial para uma redução, a médio e longo prazo, dos dados de mortalidade mundial para cânceres.

### 13. METODOLOGIA E RESULTADOS

Para além da revisão elaborada, o presente trabalho providenciou uma análise de dados conjuntos de três repositórios públicos já estabelecidos: O *Pan-cancer analysis of Whole genomes* (ICGC/TCGA), o *China Pan-cancer* e o *Metastatic Solid Cancers*, de modo a explorar informações epidemiológicas, gênicas e de predição proteica para 20 tipos tumorais diferentes (Figura 22).

**Figura 22** – Repositórios de análises pan-câncer escolhidos: Pan-cancer analysis of whole genomes (ICGC/TCGA, Nature 2020) (em vermelho), China Pan-cancer (Origimed, Nature 2022) (em azul), Metastatic Solid Cancers (UMich, Nature 2017) (em laranja)

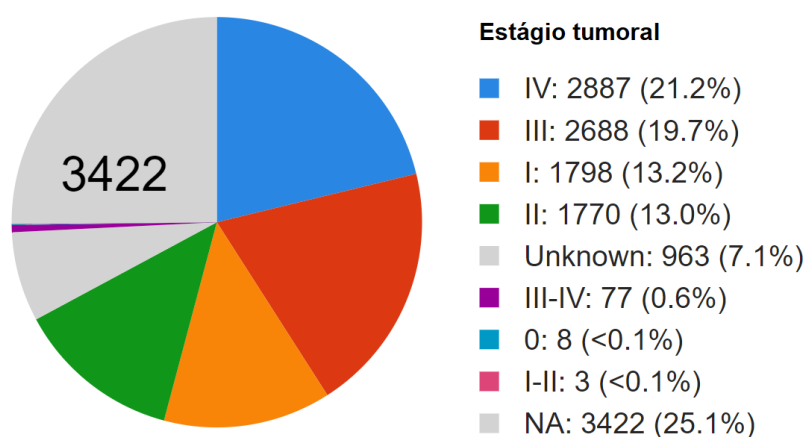


**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Os três repositórios somam 13616 amostras de tumores, com 21% destas correspondentes a tumores em estágio IV, ou seja, tumores metastáticos. Em primeira análise, foi obtido o perfil padrão entre as amostras e informações como linhagem celular afetada, local de recorrência e diferenciação entre tumores primários de tumores metastáticos. Os mesmos dados foram analisados por meio do estudo dos pacientes, considerando que, por vezes, mais de um dado de amostra corresponde a um único paciente. Nesta primeira análise, evidenciou-se a presença de mais amostras e pacientes com tumores primários, seguida de tumores metastáticos. Além

disso, a partir do *overlap* de pacientes, nota-se uma correlação existente entre recidiva tumoral associada tanto com o sítio do tumor primário quanto recidiva de tumores associados, ou seja, a recidiva, quando ocorre, pode desenvolver tumores no local onde foi tratado (câncer de mama com recidiva na mama, por exemplo), ou em tecidos similares/sítios metastáticos (câncer de mama com recidiva em lugares com alta concentração de linfonodos ou de sistema reprodutor, como tumores de glândulas salivares e tumores ovarianos, por exemplo) (Figuras 23 e 25).

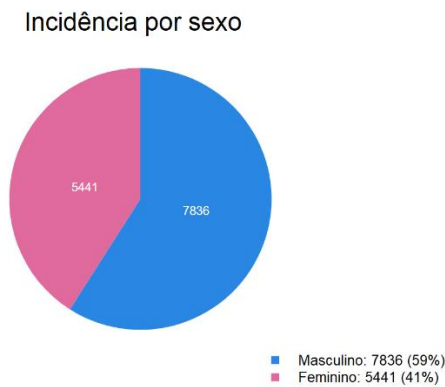
**Figura 23** – Classificação dos tumores por estágio tumoral dos três estudos somados



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Análises de sexo, independentemente da idade e de etnia, trazem luz a epidemiologia da doença (Figura 24). No que concerne ao sexo, a cada 10 indivíduos acometidos por tumores, seis são mulheres (excluindo-se cânceres de pele não-melanoma), corroborando dados mundiais que estabelecem os tumores de mama, seguidos dos tumores de pulmão (com exclusão dos melanomas) como os tipos tumorais mais incidentes. Tais dados também vão de encontro com a distribuição de indivíduos tabagistas: 37% dos indivíduos tabagistas no mundo são homens, e apenas 7% são mulheres (OPAS – OMS, 2021).

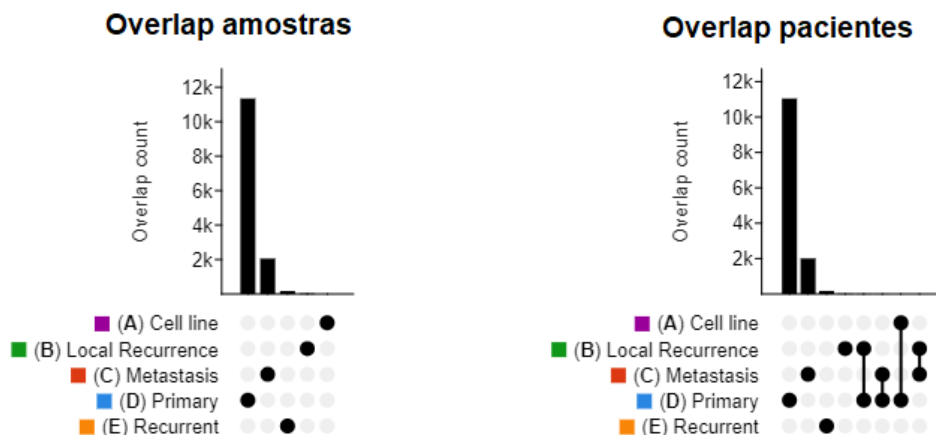
**Figura 24** – Incidência de tumores delimitado por sexo do paciente (com inclusão de cânceres de pele melanoma e não-melanoma)



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Os resultados de epidemiologia étnica e a frequência de genes mutados trazem informações da convergência entre os tumores no mundo. Os 10 genes com maior frequência de alterações em todos os 20 tipos de tumores ocorrem em todas as populações mundiais, contudo, o gene *BICRA*, relacionado ao remodelamento da cromatina e proposto como gene supressor de gliomas, aparece com maior frequência mutacional em populações Sul-Asiáticas, dado que carece de análises longitudinais clínicas mais aprofundadas, a fim de se estabelecer relações entre incidência deste tipo de tumor nesta população.

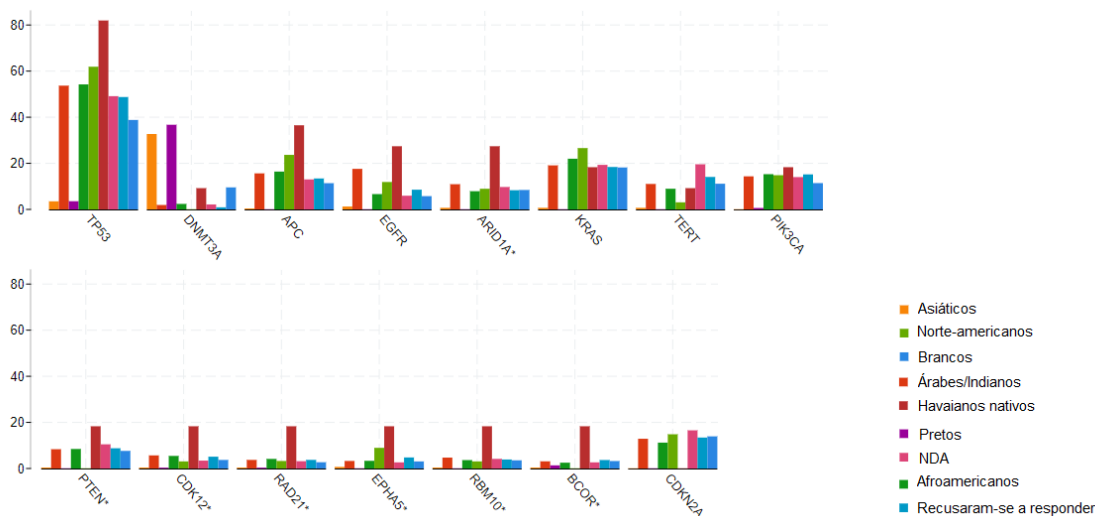
**Figura 25** – Processos associados amostras vs. Pacientes



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Enriquecimentos realizados com os 10 genes mais alterados nas diferentes populações analisadas correlacionam também processos celulares e vias metabólicas associadas ao sistema de regulação renina-angiotensina e de metabolismo carbônico (Figura 26). Estudos recentes mostram que alterações no sistema renina-angiotensina são vinculadas com a proliferação celular desenfreada, enquanto as alterações metabólicas no microambiente tumoral já são amplamente estudadas na clínica médica.

**Figura 26** – Associação dos principais genes mutados em etnias diferentes

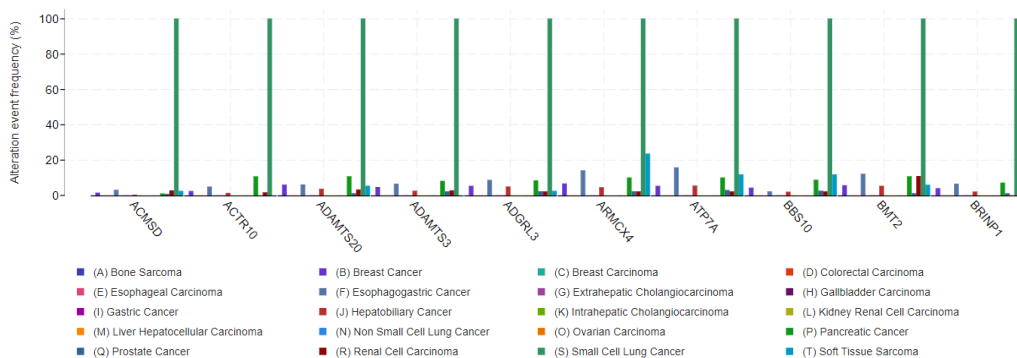


**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Agora, considerando os principais tipos de alterações gênicas em cada um dos 20 tipos de tumores aqui estudados, têm-se resultados interessantes no que concerne ao desenvolvimento e progressão tumoral. Na Figura 27, a associação de genes da família ADAM com processos de reorganização da matriz extracelular é extremamente enriquecida em tumores pancreáticos, correlacionando assim a progressão tumoral deste tipo de tumor tanto com a desregulação do processo de adesão celular e potencial agressividade, sobretudo via metástase, quanto ao remodelamento morfológico das células tumorais, possivelmente por meio de um mecanismo mais efetivo de transição epitélio-mesenquimal.



**Figura 27** – Principais genes mutados nos diferentes tipos de tumores analisados



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

Foram também delimitados os 25 genes mais mutados nos tipos de tumores aqui estudados, para a realização de predição de interação proteica entre eles (Tabela 6). Entre o n amostral analisado, 40% dos genes não são enquadrados como genes associados a tumores, mostrando assim a emergência do estudo destes, sobretudo na busca por biomarcadores que possam ser de interesse clínico para diagnóstico e prognóstico de neoplasias diversas.

**Tabela 7** – Frequência dos principais genes que aparecem mutados em tumores

Gene	Mutações	Amostras	Perfis de amostras	Frequência (%)	É oncogene?
<b>KRAS</b>	2046	2023	13337	15,10	SIM
<b>MUC16</b>	874	356	2683	13,30	NÃO
<b>LRP1B</b>	2347	1675	13337	12,50	SIM
<b>APC</b>	2036	1410	13337	10,50	SIM
<b>PIK3CA</b>	1375	1209	13337	9,00	SIM
<b>EGFR</b>	1408	1191	13337	8,90	SIM
<b>KMT2D</b>	1499	1168	13337	8,70	SIM
<b>PCLO</b>	445	278	3183	8,70	SIM
<b>CSMD3</b>	396	274	3183	8,60	NÃO
<b>ARID1A</b>	1354	1157	13337	8,60	SIM
<b>RYR2</b>	391	269	3183	8,50	NÃO
<b>FAT3</b>	1473	1123	13337	8,40	NÃO
<b>USH2A</b>	346	254	3183	8,00	NÃO
<b>SPTA1</b>	1297	1065	13337	8,00	NÃO
<b>SYNE1</b>	392	249	3183	7,80	NÃO
<b>CSMD1</b>	363	240	3183	7,50	NÃO
<b>ZFHX4</b>	335	237	3183	7,40	NÃO

<b>FLG</b>	308	228	3183	7,20	NÃO
<b>TERT</b>	993	966	13337	7,20	SIM
<b>FAT4</b>	1341	964	13337	7,20	SIM
<b>OBSCN</b>	315	227	3183	7,10	NÃO
<b>LRP2</b>	1212	937	13337	7,00	NÃO
<b>HMCN1</b>	283	220	3183	6,90	NÃO
<b>FSIP2</b>	346	220	3183	6,90	NÃO
<b>DNAH5</b>	360	215	3183	6,80	NÃO

**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

As vias de interação proteica resultantes foram separadas por meio do algoritmo de *clusterização k-means*, um método de aprendizado não supervisionado que viabiliza a separação das principais proteínas por similaridade familiar e interação estabelecida ou predita por análises *in silico* (Tabela 7). Foram obtidos 4 *clusters*, identificados por cores diferentes, como apresentado nas Figuras 28 e 29.

**Tabela 8** – Clusters proteicos e principais mecanismos associados

Cluster	Proteínas associadas	Mecanismos associados significativos
1 – Azul	PIK3CA; ARID1A; SMAD4; CDKN2A; CTNNB1; FAT1; KRAS; APC; TP53; RB1; TERT; EGFR; APOB; LRP2	GO Processos celulares – Apoptose e senescência; GO Funções moleculares – Família MDM2/4 de proteínas (oncogene inibidor de p53) GO Componente celular – Complexo de destruição da $\beta$ -catenina  PPI enrichment p-value: $7,16e^{-10}$
2 – Verde	FSIP2; CSMD1; CSMD3; XIRP2; SPTA1; RYR2; OBSCN; KMT2; TTN; RYR1; RYR3; DNAH3; FLG	GO Função Molecular – Atividade do canal de liberação de Cálcio do Receptor de Rianodina  PPI enrichment p-value: $1e^{-16}$

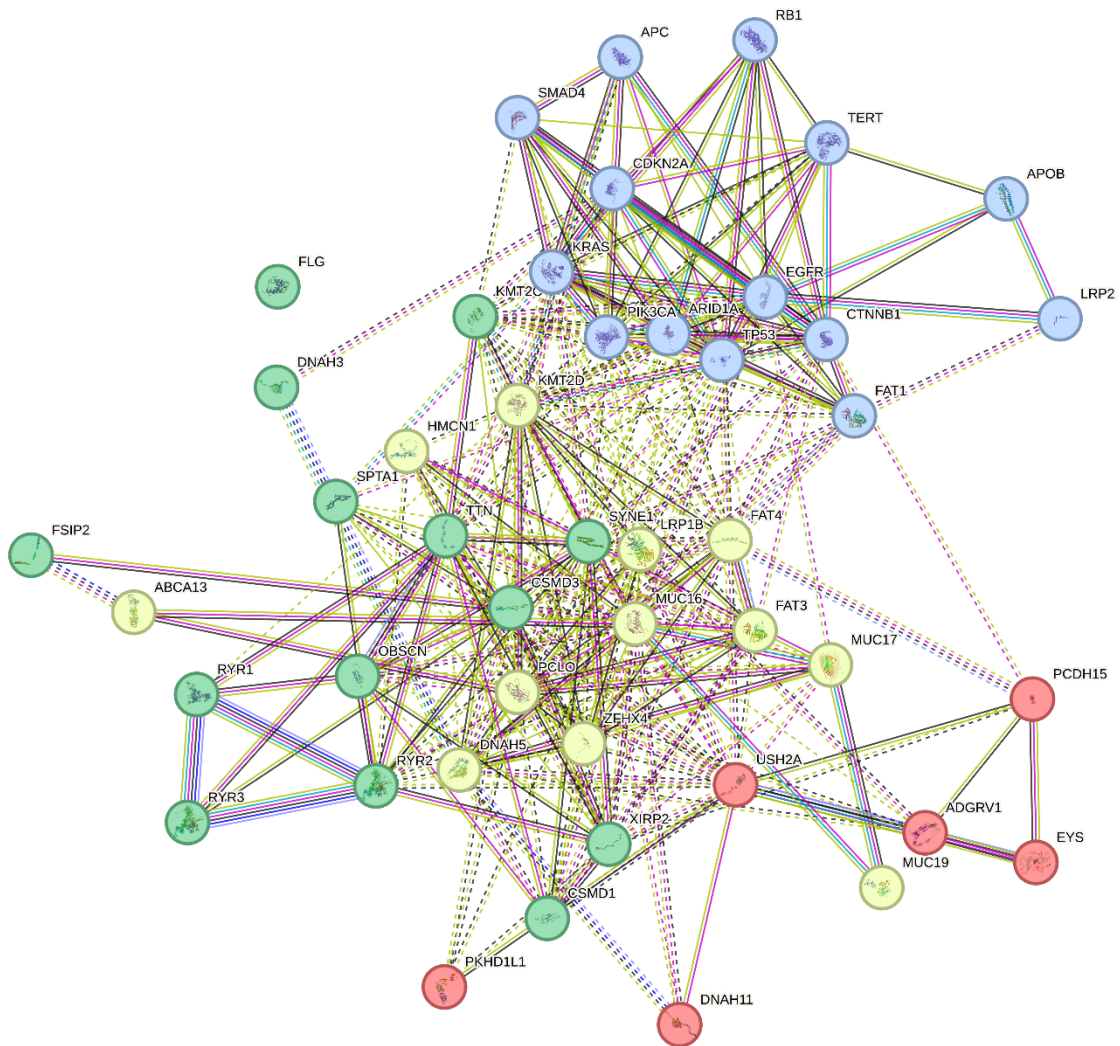
3 – Vermelho	ADGRV1; PCDH15; EYS; USH2A; DNAH11; PKHD1L1	GO Componente Celular – Complexo USH (desregulação imune) PPI enrichment p-value: $4e^{-15}$
4 – Amarelo	ABCA13; FAT3; FAT4; ZFHX4; MUC16; PCLO; MUC19; MUC17; HMCN1; DNAH5; LRP1B; KMT2D	Publicações – Alterações em MUC16 (antígeno oncológico CA-125 associado) Reactoma – defeitos em GALNT12 (alterações na via Akt de sinalização) PPI enrichment p-value: $1e^{-16}$

Fonte: Do Autor (baseado em predições proteicas obtidas via *StringDB*).

A partir das predições e vias estabelecidas entre proteínas presentes nos mesmos *clusters* ou por interação proteica de proteínas em *clusters* diferentes, pode-se conjecturar as seguintes hipóteses:

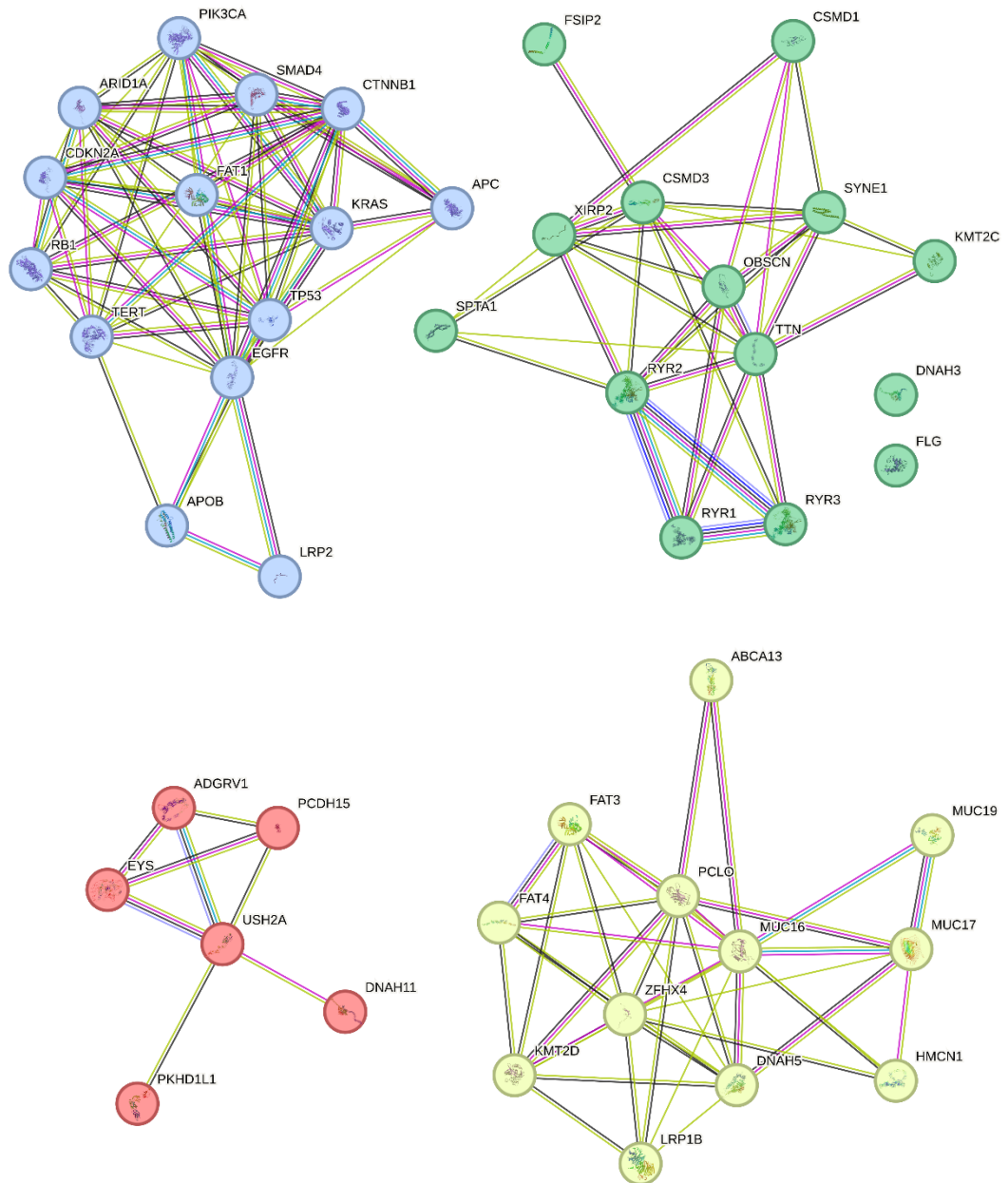
- Genes vinculados aos *clusters* azul e amarelo viabilizam processos de tumorigênese por meio de alterações em vias de sinalização clássicas como as vias Akt e Wnt-  $\beta$ -catenina e remodelamento do citoesqueleto, associados com processos de proliferação celular e transição epitélio-mesênquima, sobretudo via interação de proteínas como CTNNB1, APC e KMT2D;
- CTNNB1 modula processos de adesão celular via PCDH15 que, por sua vez, sofre influência direta dos mecanismos de liberação de cálcio via receptor de rianodina por meio de genes do *cluster* verde, como RYR1/2/3, relacionados a outras proteínas da família das caderinas, presentes no *cluster* amarelo, como FAT3 e FAT4;
- RB1 está amplamente relacionado a regulação dos processos tumorigênicos em glioblastomas por interação com mecanismos de proliferação ocorrentes por alterações em genes como PT53, KRAS e EGFR.

**Figura 28** – Predição de interação proteica com base nos genes diferencialmente expressos, analisados via *StringDB*. As linhas que ligam cada proteína estabelecem relações já determinadas (ciano e roxa) ou preditas (verde, vermelha e azul). As cores da circunferência de cada proteína indicam a formação de *clusters*, representando homologia e analogia proteica. As linhas pontilhadas indicam interação de uma proteína de um *cluster* com outra proteína pertencente a outro *cluster*.



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: *cBioPortal for Cancer Genomics*, *DESeq2*, *Enrichr*, *StringDB*, *KEGG Enrichment* e *GSEA*.

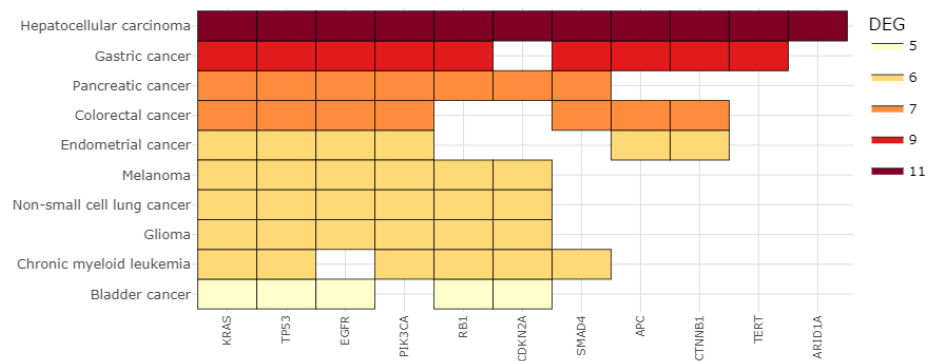
**Figura 29** – Predição de interação proteica com base nos genes diferencialmente expressos, por meio de análise *k-means* dos *clusters* obtidos, de acordo com analogias e homologias proteicas. Cada *cluster* infere ontologias de funções moleculares, componentes celulares e processos biológicos associados às proteínas submetidas a análise.



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

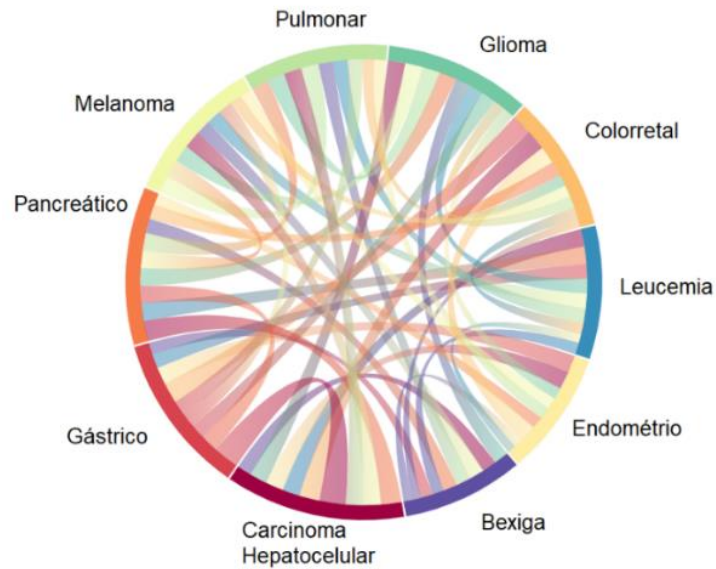
Por fim, há se de evidenciar que a convergência dos tumores, fora do âmbito de procura de novas proteínas e ou moléculas associadas está intimamente associada com genes já conhecidos nos processos tumorais, como exemplificado na Figura 30. Todavia, o estudo destes não deve ser somente voltado as vias de proliferação e processos diversos já muito conhecidos, mas também por meio de observação geral das relações entre os tipos diferentes de tumor. A Figura 31 exemplifica o comentário acima: diversos genes possuem interações em tumores extremamente distintos quanto as principais vias associadas à sua malignidade e progressão. Associações análogas trazem luz as relações já estabelecidas, mas a necessidade de se explorar interações com outros genes é necessária.

**Figura 30** – Genes codificadores de proteína Diferencialmente Expressos (*DEGs*) em diferentes tipos de tumores



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: cBioPortal for Cancer Genomics, DESeq2, Enrichr, StringDB, KEGG Enrichment e GSEA.

**Figura 31** – Relação causal entre tipos de tumores e genes diferencialmente expressos. Cada tumor listado no *chordplot* abaixo possui associações com outros tipos de tumores diretamente relacionadas com expressão concomitante de genes diferencialmente expressos convergentes, inferindo a disfunção de vias moleculares também convergentes.



**Fonte:** Do Autor. Dados analisados por meio das ferramentas: *cBioPortal for Cancer Genomics*, *DESeq2*, *Enrichr*, *StringDB*, *KEGG Enrichment* e *GSEA*.

## 14. CONCLUSÕES

A revisão bibliográfica em questão revelou uma complexa rede de relações entre dados de tumores, epidemiologia, genes mutados e vias de sinalização nos processos de proliferação, migração e invasão tumoral, com um enfoque específico na área de pan-câncer. Observou-se uma diversidade notável nos padrões epidemiológicos dos diferentes tipos de câncer, destacando a importância de abordagens personalizadas na compreensão e tratamento dessas doenças. A identificação de genes mutados emergiu como uma peça chave, com alterações genéticas específicas associadas a diferentes tipos de câncer, proporcionando *insights* valiosos para a pesquisa e o desenvolvimento de terapias direcionadas.

No âmbito das vias de sinalização, ficou evidente que as células tumorais exploram intrincadas redes moleculares para promover a sua proliferação descontrolada, migração e invasão. A compreensão dessas vias, muitas vezes interconectadas, oferece oportunidades para intervenções terapêuticas mais eficazes. Além disso, a análise integrativa de dados pan-câncer mostrou sobreposições e distinções significativas nos perfis moleculares, indicando a presença de padrões universais, bem como características específicas de cada tipo de câncer.

No contexto pan-câncer, a abordagem comparativa entre diferentes tipos de tumores proporcionou uma visão abrangente das similaridades e disparidades moleculares, permitindo a identificação de alvos terapêuticos potenciais com aplicação em múltiplos cenários oncológicos. Essa abordagem integrada destaca a importância da pesquisa translacional e da medicina de precisão para melhor entender as bases moleculares compartilhadas e distintas nos diversos cânceres.

Em suma, a revisão bibliográfica ressalta a complexidade e a interconexão entre os aspectos epidemiológicos, genéticos e moleculares nos processos tumorigênicos, proporcionando um panorama abrangente e integrado da oncologia pan-câncer. Essa compreensão aprofundada é crucial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e personalizadas, avançando assim no caminho rumo ao controle e tratamento mais efetivo do câncer em sua diversidade.



## 15. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AALTONEN, L. A. *et al.* Pan-cancer analysis of whole genomes. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 82–93, 2020.
2. ABBASI, E. *et al.* Dendrimers: synthesis, applications, and properties. **Nanoscale Research Letters**, v. 9, n. 1, p. 247, 2014.
3. ACETO, N. *et al.* Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. **Cell**, v. 158, n. 5, p. 1110–1122, 2014.
4. AJANI, J. A. *et al.* Cancer stem cells: the promise and the potential. **Seminars in Oncology**, v. 42 Suppl 1, p. S3-17, 2015.
5. AKRAS, Z. *et al.* Primer on Hereditary Cancer Predisposition Genes Included Within Somatic Next-Generation Sequencing Panels. **JCO precision oncology**, v. 3, p. 1–11, 2019.
6. ALEXANDROV, L. B. *et al.* The repertoire of mutational signatures in human cancer. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 94–101, 2020.
7. ALTOMARE, D. A.; TESTA, J. R. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. **Oncogene**, v. 24, n. 50, p. 7455–7464, 2005.
8. AMORIM, M. O. *et al.* Câncer de mama: Reprogramação do metabolismo tumoral. v. 28, n. 1, p. 1–9,
9. ANVISA APROVA 3º PRODUTO DE TERAPIA AVANÇADA PARA TRATAMENTO DO CÂNCER. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2022/anvisa-aprova-3o-produto-de-terapia-avancada-para-tratamento-do-cancer>. Acesso em: 11 nov. 2023.
10. ARAS, S.; ZAIDI, M. R. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. **British Journal of Cancer**, v. 117, n. 11, p. 1583–1591, 2017.
11. ARRUEBO, M. *et al.* Assessment of the Evolution of Cancer Treatment Therapies. **Cancers**, v. 3, n. 3, p. 3279–3330, 2011.

12. AVRUCH, J. *et al.* Ras activation of the Raf kinase: tyrosine kinase recruitment of the MAP kinase cascade. **Recent Progress in Hormone Research**, v. 56, p. 127–155, 2001.
13. BABAEI, G.; AZIZ, S. G.-G.; JAGHI, N. Z. Z. EMT, cancer stem cells and autophagy; The three main axes of metastasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie**, v. 133, p. 110909, 2021.
14. BALAKRISHNAN, A.; CHAILLET, J. R. Role of the inositol polyphosphate-4-phosphatase type II Inpp4b in the generation of ovarian teratomas. **Developmental biology**, v. 373, n. 1, p. 118–129, 2013.
15. BÖTTCHER, M. *et al.* Linking Immuno-evasion and Metabolic Reprogramming in B-Cell-Derived Lymphomas. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.594782>. Acesso em: 11 nov. 2023.
16. BOULTON, T. G. *et al.* ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. **Cell**, v. 65, n. 4, p. 663–675, 1991.
17. BUTANTAN, Instituto. **Novo centro de terapia avançada contra o câncer é inaugurado em Ribeirão Preto pelo governo de SP, Butantan e USP**. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/novo-centro-de-terapia-avancada-contr-o-cancer-e-inaugurado-em-ribeirao-preto-pelo-governo-de-sp-butantan-e-usp>. Acesso em: 21 jun. 2022.
18. CALON, A. *et al.* Stromal gene expression defines poor-prognosis subtypes in colorectal cancer. **Nature Genetics**, v. 47, n. 4, p. 320–329, 2015.
19. CAO, Z. *et al.* Angiocrine Factors Deployed by Tumor Vascular Niche Induce B-Cell Lymphoma Invasiveness and Chemoresistance. **Cancer cell**. v. 25, n. 3, p. 350–365, 2014.
20. CHATURVEDI, P. *et al.* Hypoxia-inducible factor-dependent breast cancer-mesenchymal stem cell bidirectional signaling promotes metastasis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 1, p. 189–205, 2013.
21. CHEUNG, K. J. *et al.* Collective invasion in breast cancer requires a conserved basal epithelial program. **Cell**, v. 155, n. 7, p. 1639–1651, 2013.
22. CLEVERS, H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. **Cell**, v. 127, n. 3, p. 469–480, 2006.

23. COURTNEY, K. D.; CORCORAN, R. B.; ENGELMAN, J. A. The PI3K Pathway As Drug Target in Human Cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 28, n. 6, p. 1075–1083, 2010.
24. CREWE, C.; AN, Y. A.; SCHERER, P. E. The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 1, p. 74–82, 2017.
25. Ministério da Saúde. **DATASUS**. Tabnet. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022.
26. DEVI, S. *et al.* Quantum Dots: An Emerging Approach for Cancer Therapy. **Frontiers in Materials**, v. 8, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmats.2021.798440>. Acesso em: 11 nov. 2023.
27. DING, L. *et al.* Perspective on Oncogenic Processes at the End of the Beginning of Cancer Genomics. **Cell**, v. 173, n. 2, p. 305-320.e10, 2018.
28. DJONOV, V. G.; KURZ, H.; BURRI, P. H. Optimality in the developing vascular system: branching remodeling by means of intussusception as an efficient adaptation mechanism. **Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, v. 224, n. 4, p. 391–402, 2002.
29. DONGRE, A.; WEINBERG, R. A. New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 2, p. 69–84, 2019.
30. DUBOIS, E. A.; COHEN, A. F. Panitumumab. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 68, n. 4, p. 482–483, 2009.
31. DUMAN, C. *et al.* Acyl-CoA-Binding Protein Drives Glioblastoma Tumorigenesis by Sustaining Fatty Acid Oxidation. **Cell Metabolism**, v. 30, n. 2, p. 274-289.e5, 2019.
32. DVORAK, H. F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. **The New England Journal of Medicine**, v. 315, n. 26, p. 1650–1659, 1986.
33. EBNER, D. K. *et al.* The Immunoregulatory Potential of Particle Radiation in Cancer Therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 2017. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00099>. Acesso em: 11 nov. 2023.

34. EINHORN, L. H.; DONOHUE, J. P. Combination chemotherapy in disseminated testicular cancer: the Indiana University experience. **Seminars in Oncology**, v. 6, n. 1, p. 87–93, 1979.
35. FARES, J. *et al.* Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, p. 28, 2020.
36. FDA-APPROVED CAR T-CELL THERAPIES | UPMC HILLMAN. [*s. d.*]. Disponível em: <https://hillman.upmc.com/mario-lemieux-center/treatment/car-t-cell-therapy/fda-approved-therapies>. Acesso em: 11 nov. 2023.
37. FISCHER, K. R. *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition is not required for lung metastasis but contributes to chemoresistance. **Nature**, v. 527, n. 7579, p. 472–476, 2015.
38. FLUEGEN, G. *et al.* Phenotypic heterogeneity of disseminated tumour cells is preset by primary tumour hypoxic microenvironments. **Nature Cell Biology**, v. 19, n. 2, p. 120–132, 2017.
39. GAJOS-MICHNIEWICZ, A.; CZYZ, M. WNT Signaling in Melanoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 14, p. 4852, 2020.
40. GAVAS, S.; QUAZI, S.; KARPIŃSKI, T. M. Nanoparticles for Cancer Therapy: Current Progress and Challenges. **Nanoscale Research Letters**, v. 16, p. 173, 2021.
41. GOODMAN, L. S.; WINTROBE, M. M. Nitrogen mustard therapy; use of methyl-bis (beta-chloroethyl) amine hydrochloride and tris (beta-chloroethyl) amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. **Journal of the American Medical Association**, v. 132, p. 126–132, 1946.
42. GUILLEREY, C.; HUNTINGTON, N. D.; SMYTH, M. J. Targeting natural killer cells in cancer immunotherapy. **Nature Immunology**, v. 17, n. 9, p. 1025–1036, 2016.
43. HANAHAAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.
44. HANAHAAN, Douglas. Hallmarks of Cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31-46, 1 jan. 2022. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/2159-8290.cd-21-1059>.

45. HARPER, K. L. *et al.* Mechanism of early dissemination and metastasis in Her2+ mammary cancer. **Nature**, v. 540, n. 7634, p. 588–592, 2016.
46. HEMMING, B. A.; RESTUCCIA, D. F. PI3K-PKB/Akt Pathway. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 4, n. 9, p. a011189, 2012.
47. HESKETH, M. *et al.* Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 7, p. 1545, 2017.
48. HITCHINGS, G. H.; ELION, G. B. The chemistry and biochemistry of purine analogs. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 60, n. 2, p. 195–199, 1954.
49. HOADLEY, K. A. *et al.* Cell-of-Origin Patterns Dominate the Molecular Classification of 10,000 Tumors from 33 Types of Cancer. **Cell**, v. 173, n. 2, p. 291-304.e6, 2018.
50. HONG, S. N. Genetic and epigenetic alterations of colorectal cancer. **Intestinal Research**, v. 16, n. 3, p. 327–337, 2018.
51. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2022.
52. JIANG, W. *et al.* Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. **Nature Nanotechnology**, v. 3, n. 3, p. 145–150, 2008.
53. JOHNSON, D. G.; WALKER, C. L. Cyclins and Cell Cycle Checkpoints. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 295–312, 1999.
54. KAHN, C. R.; WANG, G.; LEE, K. Y. Altered adipose tissue and adipocyte function in the pathogenesis of metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 129, n. 10, p. 3990–4000, 2019.
55. KEBRIAIEI, P. *et al.* Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 126, n. 9, p. 3363–3376, 2016.
56. KESHET, Y.; SEGER, R. The MAP kinase signaling cascades: a system of hundreds of components regulates a diverse array of physiological functions. **Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)**, v. 661, p. 3–38, 2010.

57. KIM, N. *et al.* Single-cell RNA sequencing demonstrates the molecular and cellular reprogramming of metastatic lung adenocarcinoma. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 2285, 2020.
58. KIM, J. M.; RASMUSSEN, J. P.; RUDENSKY, A. Y. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. **Nature Immunology**, v. 8, n. 2, p. 191–197, 2007.
59. KÖHLER, G.; MILSTEIN, C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. **Nature**, v. 256, n. 5517, p. 495–497, 1975.
60. KOLACZKOWSKA, E.; KUBES, P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. **Nature Reviews. Immunology**, v. 13, n. 3, p. 159–175, 2013.
61. LEI, X. *et al.* Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy. **Cancer Letters**, v. 470, p. 126–133, 2020.
62. LI, Y. *et al.* Patterns of somatic structural variation in human cancer genomes. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 112–121, 2020.
63. LIM, E.-K.; CHUNG, B. H.; CHUNG, S. J. Recent Advances in pH-Sensitive Polymeric Nanoparticles for Smart Drug Delivery in Cancer Therapy. **Current Drug Targets**, v. 19, n. 4, p. 300–317, 2018.
64. LINDE, N. *et al.* Macrophages orchestrate breast cancer early dissemination and metastasis. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 21, 2018.
65. LIPSICK, J. A History of Cancer Research: Tumor Viruses. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 13, n. 6, p. a035774, 2021.
66. LIU, Z.-J. *et al.* Regulation of Notch1 and Dll4 by vascular endothelial growth factor in arterial endothelial cells: implications for modulating arteriogenesis and angiogenesis. **Molecular and Cellular Biology**, v. 23, n. 1, p. 14–25, 2003.
67. MABTHERA\_BULA\_PROFIOSSIONAL.PDF., [s. d.]. Disponível em: [https://dialogoroche.com.br/content/dam/roche-dialogo/dialogo-brazil-assets/downloadable-assets/produtos/bulas/mabthera-ar/Mabthera\\_Bula\\_Profissional.pdf](https://dialogoroche.com.br/content/dam/roche-dialogo/dialogo-brazil-assets/downloadable-assets/produtos/bulas/mabthera-ar/Mabthera_Bula_Profissional.pdf). Acesso em: 11 nov. 2023.

68. MANNING, G. *et al.* The protein kinase complement of the human genome. **Science (New York, N.Y.)**, v. 298, n. 5600, p. 1912–1934, 2002.
69. MUKHERJEE, A.; BILECZ, A. J.; LENGYEL, E. The adipocyte microenvironment and cancer. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 41, n. 3, p. 575–587, 2022.
70. NARAYANAN, S. *et al.* Tumor Infiltrating Lymphocytes and Macrophages Improve Survival in Microsatellite Unstable Colorectal Cancer. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 13455, 2019.
71. NIEMAN, K. M. *et al.* Adipose tissue and adipocytes support tumorigenesis and metastasis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1831, n. 10, Lipid Metabolism in Cancer, p. 1533–1541, 2013.
72. NITZSCHE, B. *et al.* Coalescent angiogenesis-evidence for a novel concept of vascular network maturation. **Angiogenesis**, v. 25, n. 1, p. 35–45, 2022.
73. NOFECH-MOZES, I. *et al.* Pan-cancer classification of single cells in the tumour microenvironment. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 1615, 2023.
74. NON-THERMAL PLASMA TECHNOLOGY FOR POLYMERIC MATERIALS: APPLICATIONS IN COMPOSITES, NANOSTRUCTURED MATERIALS, AND BIOMEDICAL FIELDS 9780128131527, 1651671761, 1931931941, 4394394414, 0128131527. 2020. Disponível em: <https://ebin.pub/non-thermal-plasma-technology-for-polymeric-materials-applications-in-composites-nanostructured-materials-and-biomedical-fields-9780128131527-1651671761-1931931941-4394394414-0128131527.html>. Acesso em: 11 nov. 2023.
75. NOOROLYAI, S. *et al.* The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer. **Gene**, v. 698, p. 120–128, 2019.
76. NOWAK-SLIWINSKA, P. *et al.* Consensus guidelines for the use and interpretation of angiogenesis assays. **Angiogenesis**, v. 21, n. 3, p. 425–532, 2018.
77. NUSSE, R.; CLEVERS, H. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. **Cell**, v. 169, n. 6, p. 985–999, 2017.
78. ONDER, T. T. *et al.* Loss of E-Cadherin Promotes Metastasis via Multiple Downstream Transcriptional Pathways. **Cancer Research**, v. 68, n. 10, p. 3645–3654, 2008.

79. PARK, C. H.; *et al.* Two staging systems for gastrointestinal stromal tumors in the stomach: which is better?. **Bmc Gastroenterology**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-8, dez. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s12876-017-0705-7>.
80. PASTUSHENKO, I.; BLANPAIN, C. EMT Transition States during Tumor Progression and Metastasis. **Trends in Cell Biology**, v. 29, n. 3, p. 212–226, 2019.
81. PEER, D. *et al.* Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. **Nature Nanotechnology**, v. 2, n. 12, p. 751–760, 2007.
82. PÉREZ-TENORIO, G. *et al.* PIK3CA mutations and PTEN loss correlate with similar prognostic factors and are not mutually exclusive in breast cancer. **Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research**, v. 13, n. 12, p. 3577–3584, 2007.
83. PIÑEIRO FERNÁNDEZ, J. *et al.* Hepatic Tumor Microenvironments and Effects on NK Cell Phenotype and Function. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 17, p. 4131, 2019.
84. PLOTNIKOV, A. *et al.* The MAPK cascades: signaling components, nuclear roles and mechanisms of nuclear translocation. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1813, n. 9, p. 1619–1633, 2011.
85. PORTO, L. P. A. EXPRESSÃO PROTEICA DIFERENCIAL DE REGULADORES DE E-CADERINA EM TUMOR ODONTOGÊNICO QUERATOCÍSTICO.
86. PUNEET *et al.* Epigenetic Mechanisms and Events in Gastric Cancer-Emerging Novel Biomarkers. **Pathology & Oncology Research**, v. 24, n. 4, p. 757–770, 2018.
87. RELATÓRIO DE DESENVOLVIMENTO HUMANO 2021-22 | UNITED NATIONS DEVELOPMENT PROGRAMME. [s. d.]. Disponível em: <https://www.undp.org/pt/brazil/desenvolvimento-humano/publications/relatorio-de-desenvolvimento-humano-2021-22>. Acesso em: 11 nov. 2023.
88. REN, B. *et al.* E2F integrates cell cycle progression with DNA repair, replication, and G2/M checkpoints. **Genes & Development**, v. 16, n. 2, p. 245–256, 2002.



89. RESEARCH, C. for B. E. and. Approved Cellular and Gene Therapy Products. **FDA**, 2023. Disponível em: <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/cellular-gene-therapy-products/approved-cellular-and-gene-therapy-products>. Acesso em: 11 nov. 2023.
90. REUVENI, T. *et al.* Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of cancer: an in vivo study. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 2859–2864, 2011.
91. RHEINBAY, E. *et al.* Analyses of non-coding somatic drivers in 2,658 cancer whole genomes. **Nature**, v. 578, n. 7793, p. 102–111, 2020.
92. ROBERTS, P. J.; DER, C. J. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. **Oncogene**, v. 26, n. 22, p. 3291–3310, 2007.
93. RODRÍGUEZ-NAVA, C. *et al.* Mechanisms of Action and Limitations of Monoclonal Antibodies and Single Chain Fragment Variable (scFv) in the Treatment of Cancer. **Biomedicines**, v. 11, n. 6, p. 1610, 2023.
94. SANCHEZ-VEGA, F. *et al.* Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. **Cell**, v. 173, n. 2, p. 321-337.e10, 2018.
95. SCHIENDA, J. *et al.* Germline Sequencing Improves Tumor-Only Sequencing Interpretation in a Precision Genomic Study of Patients with Pediatric Solid Tumor. **JCO precision oncology**, v. 5, p. PO.21.00281, 2021.
96. SERRANO-GOMEZ, S. J.; MAZIVEYI, M.; ALAHARI, S. K. Regulation of epithelial-mesenchymal transition through epigenetic and post-translational modifications. **Molecular Cancer**, v. 15, n. 1, p. 18, 2016.
97. SHAFEY, A. M. E. Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review. **Green Processing and Synthesis**, v. 9, n. 1, p. 304–339, 2020.
98. SIMANSHU, D. K.; NISSLEY, D. V.; MCCORMICK, F. RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. **Cell**, v. 170, n. 1, p. 17–33, 2017.
99. SORKIN, R. D. **A Historical Perspective on Cancer**. Versão arXiv:physics/0011002. [S. l.]: arXiv, 2000. Disponível em: <http://arxiv.org/abs/physics/0011002>. Acesso em: 11 nov. 2023.

100. STARLING, D. Two ultrastructurally distinct tubulin paracrystals induced in sea-urchin eggs by vinblastine sulphate. **Journal of Cell Science**, v. 20, n. 1, p. 79–89, 1976.
101. STERNER, R. C.; STERNER, R. M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. **Blood Cancer Journal**, v. 11, n. 4, p. 1–11, 2021.
102. SUDHAKAR, A. History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. **Journal of Cancer Science & Therapy**, v. 01, n. 02, p. i–iv, 2009.
103. T BOARD. **Recommendation for a Human Cancer Genome Project: In NHI.** , 2005. Disponível em: <https://deainfo.nci.nih.gov/>. Acesso em: 13 nov. 2023.
104. TAYLOR, R. P.; LINDORFER, M. A. Cytotoxic mechanisms of immunotherapy: Harnessing complement in the action of anti-tumor monoclonal antibodies. **Seminars in Immunology**, v. 28, n. 3, p. 309–316, 2016.
105. National Cancer Institute. **The Cancer Genome Atlas Program.** Center of Cancer Genomics. Disponível em: <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>. Acesso em 08 nov. 2023.
106. **The Cell Cycle: A Review of Regulation, Deregulation And Therapeutic Targets In Cancer.** Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2184.2003.00266.x>. Acesso em: 11 nov. 2023.
107. THORSSON, V. *et al.* The Immune Landscape of Cancer. **Immunity**, v. 48, n. 4, p. 812–830.e14, 2018.
108. TIMMERMAN, R. D.; XING, L. **Image-guided and Adaptive Radiation Therapy.** [S. l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
109. TSOU, P. *et al.* The Emerging Role of B Cells in Tumor Immunity. **Cancer Research**, v. 76, n. 19, p. 5597–5601, 2016.
110. UNDERSTANDING WHAT CANCER IS: ANCIENT TIMES TO PRESENT. [S. d.]. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/understanding-cancer/history-of-cancer/what-is-cancer.html>. Acesso em: 11 nov. 2023.

111. VALKENBURG, K. C.; DE GROOT, A. E.; PIENTA, K. J. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy. **Nature Reviews. Clinical Oncology**, v. 15, n. 6, p. 366–381, 2018.
112. VOSKOBOINIK, I.; SMYTH, M. J.; TRAPANI, J. A. Perforin-mediated target-cell death and immune homeostasis. **Nature Reviews. Immunology**, v. 6, n. 12, p. 940–952, 2006.
113. WANG, J.; HU, Y.; HUANG, H. Current development of chimeric antigen receptor T-cell therapy. **Stem Cell Investigation**, v. 5, p. 44, 2018.
114. WANG, J.; LI, Y.; NIE, G. Multifunctional biomolecule nanostructures for cancer therapy. **Nature Reviews. Materials**, v. 6, n. 9, p. 766–783, 2021.
115. WOLF, D. et al. Treg(s) in Cancer: Friends or Foe?. **Journal of Cellular Physiology**, v. 230, n. 11, p. 2598–2605, 2015.
116. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Globocan**. International Agency for Research on Cancer. Geneva: World Health Organization. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/>>. Acesso em 11 de nov. de 2023.
117. XU, Y. *et al.* The roles of PD-1/PD-L1 in the prognosis and immunotherapy of prostate cancer. **Molecular Therapy**, v. 29, n. 6, p. 1958–1969, 2021.
118. YANG, Q. *et al.* Evading immune cell uptake and clearance requires PEG grafting at densities substantially exceeding the minimum for brush conformation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 4, p. 1250–1258, 2014.
119. YANG, D. *et al.* Role of endothelial cells in tumor microenvironment. **Clinical and Translational Medicine**, v. 11, n. 6, p. e450, 2021.
120. YOUNG, R. M. *et al.* Next-Generation CAR T-cell Therapies. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 7, p. 1625–1633, 2022.
121. ZHANG, L. *et al.* Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth. **Nature**, v. 527, n. 7576, p. 100–104, 2015.
122. ZHAO, Q. *et al.* Development of a nano-drug delivery system based on mesoporous silica and its anti-lymphoma activity. **Applied Nanoscience**, v. 10, n. 9, p. 3431–3442, 2020.

123. ZHENG, C. *et al.* Landscape of Infiltrating T Cells in Liver Cancer Revealed by Single-Cell Sequencing. **Cell**, v. 169, n. 7, p. 1342-1356.e16, 2017.