

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ESTOMATOLOGIA CLÍNICA

Letícia Madalosso Bergozza

AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ TUMORAL COMO FERRAMENTA PROGNÓSTICA EM
DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIAS MALIGNAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA
E META-ANÁLISE

Porto Alegre

2023

Letícia Madalosso Bergozza

AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ TUMORAL COMO FERRAMENTA PROGNÓSTICA EM
DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIAS MALIGNAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA
E META-ANÁLISE

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Estomatologia Clínica, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Madalosso Bergozza, Leticia
AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ TUMORAL COMO FERRAMENTA
PROGNÓSTICA EM DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIAS
MALIGNAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE /
Leticia Madalosso Bergozza. -- 2023.
46 f.
Orientador: Marcelo Lazzaron Lamers.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa
de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS,
2023.

1. câncer. 2. rigidez tumoral. 3. prognóstico de
pacientes. 4. microambiente tumoral. 5. matriz
extracelular. I. Lazzaron Lamers, Marcelo, orient.
II. Título.

Letícia Madalosso Bergozza

AVALIAÇÃO DA RIGIDEZ TUMORAL COMO FERRAMENTA PROGNÓSTICA EM
DIFERENTES TIPOS DE NEOPLASIAS MALIGNAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA
E META-ANÁLISE

Dissertação aprovada para obtenção do
título de Mestre no Programa de
Pós-Graduação em Odontologia da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
pela banca examinadora formada por:

Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers
UFRGS

Prof. Dra. Manoela Domingues Martins
UFRGS

Prof. Dra. Nádia Assein Arús
UFRGS

Prof. Dra. Rúbia da Rocha Vieira
Feevale

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista aos meus pais, Volnei e Cristina e a minha avó materna, Maria. Obrigada por serem minha base e meus incentivadores na realização do meu maior sonho. Desejo poder ter sido merecedora de todo esforço dedicado por vocês em todos os aspectos, especialmente quanto a minha formação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por me dar forças para viver, me capacitar e trazer essa tão sonhada vitória para a minha vida.

A minha família, em especial aos meus pais, por todo apoio, incentivo, paciência, e compreensão nas intermináveis idas e vindas à Porto Alegre. Obrigada por estarem sempre ao meu lado e por acreditarem em mim. Vocês são meu alicerce, são as pessoas que eu mais amo na vida!

A minha avó materna Maria, por sempre se preocupar comigo e me esperar chegar em casa com comida quentinha. Contigo, eu aprendi os valores mais preciosos de um ser humano: a humildade, o amor e o cuidado com o próximo. Te amo com todo o meu coração!

Aos meus dindos, que são meus segundos pais, por sempre acompanharem minha trajetória e estarem ao meu lado vibrando pelas minhas conquistas.

As minhas amigas, que são anjos que Deus colocou no meu caminho e as irmãs que eu não tive. Obrigada por sempre compreenderem quando precisei me ausentar em todos esses anos de estudos (graduação e mestrado). Levo vocês com carinho no meu coração.

Ao Prof. Dr. Marcelo Lazzaron Lamers, pelos direcionamentos passados desde quando entrei no programa de mestrado até a minha conclusão. Obrigada por toda a compreensão e paciência que dispendeu durante esses dois anos e pela oportunidade de ter sido sua orientada.

A Prof. Dra. Rúbia da Rocha Vieira, a qual foi minha professora na graduação e me incentivou a ir para o caminho da docência, despertando em mim o amor pela Estomatologia e Patologia Bucal. Obrigada por ser minha inspiração!

A Prof. Dra. Mariá Cortina Bellan, minha professora e orientadora de TCC da graduação, e agora, minha dupla de especialização. Tua amizade, apoio constante e palavras de incentivo foram essenciais. Espero seguir seus passos e me tornar uma profissional tão excelente quanto tu és.

A CAPES pelos meses de bolsa que me foram concedidos durante o período em que residi em Porto Alegre, me proporcionando um grandioso aprendizado ao poder acompanhar meu colega Leonardo Diel em seus experimentos envolvendo cultura de células no laboratório.

A todos colegas do Laboratório de Migração Celular (LAMOC). Obrigada pela parceria e incentivo de sempre!

*"Um sonho é apenas um desejo, até o momento que
você começa a atuar sobre ele e propor-se a
transformá-lo em meta".*

Mary Kay Ash

RESUMO

A rigidez do tecido tumoral é um fator crucial na progressão do câncer. Em geral, os tumores sólidos são mais duros que os tecidos normais devido às alterações que acontecem na matriz extracelular (MEC) e na estrutura das células. Esse endurecimento do tecido tumoral pode influenciar a migração e a invasão celular tumoral. Assim, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão sistemática e meta-análise acerca da compreensão da relação entre a rigidez do tecido tumoral e a progressão do câncer com seu prognóstico, o qual demonstrou ser pior em diversos tipos de câncer, incluindo fígado, mama, cérebro e endométrio. Quatro bases de dados (PubMed, Embase, Web of Science e Scopus) foram utilizadas como fonte de busca, na qual foram incluídos estudos que apresentaram algum tipo de relação entre o tumor e a rigidez. No total, vinte e cinco artigos foram selecionados para a revisão sistemática e meta-análise. A metodologia SWE (elastografia por ondas de cisalhamento) foi a mais utilizada nos estudos e se mostrou eficiente para avaliar a elasticidade do tecido. Embora a pesquisa tenha mostrado que a rigidez do tecido tumoral está relacionada com prognósticos mais desfavoráveis, a falta de trabalhos científicos sobre a rigidez do tecido tumoral no câncer de boca pode refletir uma lacuna nos estudos sobre a biologia desse tipo de tumor. Compreender melhor a relação entre o endurecimento tumoral e sua progressão pode ter implicações importantes para o desenvolvimento de novas terapias e estratégias de tratamento.

Palavras-Chave: câncer; rigidez; matriz extracelular; prognóstico; tratamento.

ABSTRACT

The stiffness of tumor tissue is a crucial factor in cancer progression. Generally, solid tumors are harder than normal tissues due to changes that occur in the extracellular matrix (ECM) and cell structure. This stiffening of tumor tissue can influence tumor cell migration and invasion. Therefore, the aim of the present study was to conduct a systematic review and meta-analysis on the understanding of the relationship between tumor tissue stiffness and cancer progression with its prognosis, which was found to be worse in various types of cancer, including liver, breast, brain, and endometrial cancer. Four databases (PubMed, Embase, Web of Science, and Scopus) were used as the search sources, and studies that presented some kind of relationship between the tumor and stiffness were included. In total, twenty-five articles were selected for the systematic review and meta-analysis. Shear wave elastography (SWE) methodology was the most commonly used in the studies and proved to be effective in evaluating tissue elasticity. Although the research showed that tumor tissue stiffness is related to unfavorable prognoses, the lack of scientific studies on tumor tissue stiffness in oral cancer may reflect a gap in studies on the biology of this type of tumor. Better understanding the relationship between tumor stiffening and its progression may have important implications for the development of new therapies and treatment strategies.

Keywords: cancer; stiffness; extracellular matrix; prognosis; treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Introdução

Figura 1 - Características do câncer em 2000.

Figura 2 - Figura 2. Características emergentes e habilitadoras do câncer atualizadas em 2011

Figura 3 - Resumo das características do câncer que foram adicionadas em 2022.

Figura 4 - Diferentes elementos que compõem o microambiente tumoral.

Figura 5 - Reação do SCC25 diante de estímulos inflamatórios.

Figura 6 - Propriedades físicas da MEC.

Figura 7 - Ilustração simplificada da matriz extracelular.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Introdução

TME - Microambiente Tumoral

OMS - Organização Mundial de Saúde

INCA - Instituto Nacional do Câncer

HBV - Vírus da Hepatite B

HCV - Vírus da Hepatite C

NAFLD - Esteatose Hepática Não Alcoólica

CHC - Carcinoma Hepatocelular

AFP - Dosagem Sérica de Alfafetoproteína

DGCP - Des-Gama-Carboxi Protrombina

GP73 - Proteína de Golgi-73

DKK1 - Dickkopf-1

TC - Tomografia Computadorizada

kPa - Quilopascal

SNC Sistema Nervoso Central

CECP - Carcinoma Espinocelular de Cabeça e Pescoço

MEC - Matriz Extracelular

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

CAFs - Fibroblastos Associados ao Tumor

EGFR - Expressão do Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico

VEGF - Fator de Crescimento Vascular Endotelial

CARs - Receptores Quiméricos de Antígeno

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

TGF- β - Fator de Crescimento Transformador Beta

EMT - Transição Epitelial-Mesenquimal

GAG - Glicosaminoglicanos

MRI - Elastografia por Ressonância Magnética

SWE - Elastografia de Cisalhamento

VTTQ - Elastografia Transiente Controlada por Vibração

CUSE - Elastografia de Cisalhamento por Ultrassom Combinado

GPa - Gigapascal

Artigo científico

ECM - Extracellular Matrix

SWE - Shear Wave elastography

RFS - Relapse-Free Survival

OS - Overall Survival

CAFs - Cancer-Associated Fibroblasts

DeCS - Health Sciences Descriptors

MeSH - Medical Subject Headings

Emtree - Embase Subject Headings

HR - Hazard Ratio

TNM - Classification of Malignant Tumours

MRE - Magnetic Resonance Elastography

TGF- β - Transforming Growth Factor Beta

RFA - Radiofrequency Ablation

pCR - Pathologic complete response

ERs - Estrogen Receptor

DFS - Disease-Free Survival

CNS - Central Nervous System

HPV - Human Papillomavirus

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1 <i>Biologia do Câncer</i>	20
1.2 <i>Microambiente tumoral (TME)</i>	24
1.2.1 <i>Fatores biológicos do TME</i>	25
1.2.2 <i>Fatores químicos do TME</i>	27
1.2.3 <i>Fatores físicos do TME</i>	29
1.3 <i>Matriz Extracelular (MEC)</i>	32
1.3.1 <i>Rigidez e degradação da Matriz Extracelular (MEC)</i>	34
2. HIPÓTESE DO ESTUDO	37
3. OBJETIVOS	38
3.1 <i>Objetivo geral</i>	38
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	38
4. CONCLUSÕES	39
5. PERSPECTIVAS	40
6. REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

Com a descoberta de novos alvos terapêuticos no combate ao câncer, a oncologia teve um avanço significativo nas últimas décadas. O conhecimento sobre o microambiente tumoral (TME) foi expandido notavelmente, assim como a tecnologia médica avançada permitiu o desenvolvimento de várias técnicas e métodos de medição de tumores com maior precisão e detalhes. Apesar disso, o câncer continua sendo um problema global significativo de grande impacto na saúde pública, enfrentando desafios consideráveis no que diz respeito às opções limitadas de tratamento efetivo, prognóstico desfavorável e taxas elevadas de mortalidade (Chen et al., 2016).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as neoplasias malignas foram responsáveis por aproximadamente 10 milhões de mortes no mundo e estima-se que esse número sofrerá um aumento de 14,2% nos próximos cinco anos, alcançando cerca de 11,3 milhões de óbitos. No Brasil, são esperados 704 mil novos casos para cada ano do triênio 2023-2025, destacando as regiões Sul e Sudeste, as quais concentram 70% dos casos (INCA, 2022). Algumas das formas mais comuns da doença incluem os tumores de fígado, mama, cérebro e endométrio.

Segundo dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o carcinoma hepatocelular é o tumor primário do fígado mais comum. Trata-se de uma doença agressiva, presente em mais de 80% dos casos, sendo metade desses casos associados à cirrose hepática. Os sintomas mais comuns incluem dor abdominal, massa abdominal, distensão abdominal, perda de peso, perda de apetite, mal-estar, icterícia e ascite (INCA, 2022). Os fatores de risco incluem a infecção pelo HBV (vírus da hepatite B) e HCV (vírus da hepatite C), doenças hepáticas derivadas do consumo de álcool, exposição a aflatoxinas e, principalmente, a esteatose hepática não alcoólica (NAFLD) (Baffy et al., 2012). O risco estimado de desenvolver carcinoma hepatocelular (CHC) é 15-20 vezes maior em pessoas infectadas com o HCV em comparação com aquelas não infectadas. Esse risco é principalmente observado em indivíduos que apresentam fibrose hepática avançada ou cirrose. Quanto às medidas de dureza, valores abaixo de 2,5 kPa são geralmente considerados indicativos de um fígado normal, sem fibrose significativa, enquanto

valores acima de 5 kPa são indicativos de fibrose hepática avançada ou cirrose (Hoodeshenas et al., 2018). O diagnóstico pode ser feito por meio de exames de imagem, como a ultrassonografia abdominal, testes sorológicos como dosagem sérica de alfafetoproteína (AFP) ligada à lectina, des-gama-carboxi protrombina (DGCP), proteína de Golgi-73 (GP73), glipicano-3 ou Dickkopf-1 (DKK1) e anátomo-patológico de biópsia hepática, geralmente guiada por ultrassonografia ou tomografia computadorizada (TC). (Reig et al., 2021) (Galle et al., 2018). De acordo com as estimativas para o triênio de 2023-2025, para cada ano é esperado 10.700 novos casos, afetando com maior frequência os homens. A mortalidade também é significativa, com um total de 10.763 casos (INCA, 2022).

Já o câncer de mama, é o segundo tipo de câncer mais incidente em mulheres de todas as regiões e as taxas são mais elevadas nas regiões que atualmente estão passando por transformações econômicas, com a estimativa de 73.610 casos novos em 2023 (INCA, 2022). A sobrevivência, no entanto, é muito menos favorável em regiões menos desenvolvidas (Sung et al., 2021). O surgimento de um nódulo é o sintoma mais comum, podendo ser indolor, duro e irregular na maioria dos casos, ou ainda de consistência branda, globosos e bem definidos. Além disso, edema cutâneo semelhante à casca de laranja, retração cutânea, dor, inversão do mamilo, hiperemia, descamação ou ulceração do mamilo e secreção papilar também podem ser sinais. Quando ocorre de forma unilateral e espontânea, geralmente apresenta uma secreção associada que é transparente, podendo ter tonalidades rosadas ou avermelhadas devido à presença de glóbulos vermelhos. Além disso, também é possível observar linfonodos palpáveis na região da axila (INCA, 2022) (Asif et al., 2014). O valor de rigidez do tecido mamário normal é de aproximadamente 1,5 kPa. Já o tecido do câncer de mama, pode ser dez vezes mais rígido que o tecido mamário normal, apresentando um valor de 150 kPa de dureza (Kass et al., 2007; Butcher et al., 2009; Levental et al., 2009).

Os tumores cerebrais malignos podem apresentar uma consistência variada, que, em alguns casos, é descrita como mole, com uma rigidez inferior a 1 kPa (Swift et al., 2013). São categorizados como tumores raros em adultos, representando apenas 1 a 2% de todos os tipos de câncer e resultam de diversas alterações genéticas acumuladas ao longo da vida, que podem ser adquiridas por predisposição ou exposição a fatores de risco ou ser hereditárias e presentes em síndromes familiares associadas a tumores do sistema nervoso central (SNC), como

a neurofibromatose (Wild et al., 2020) (H. Sung et al., 2021). Os sintomas mais comuns incluem dores de cabeça com "alarmes", perda de funções neurológicas, epilepsia ou outras crises convulsivas. As estimativas para o ano de 2023 indicam que haverá 11.490 novos casos de tumores cerebrais e do sistema nervoso central, sendo 6.110 em homens e 5.380 em mulheres (INCA, 2022). Entretanto, as taxas de mortalidade são preocupantes, pois eles permanecem entre as formas mais letais e desafiam as abordagens de tratamentos já estabelecidas, com taxas invariáveis nos últimos 30 anos (V.A. Levin et al., 2015) (R. Haumann et al., 2020).

O câncer de corpo do útero pode iniciar em diferentes partes do órgão. O tipo mais comum tem origem no endométrio, que é o revestimento interno do útero. Ele é classificado em dois tipos principais, de acordo com o padrão histológico e desfechos clínicos: o tipo I, que é dependente de estrogênio, e tipo II, que não depende desse hormônio (INCA, 2022). Esse tipo de câncer é mais comum em mulheres na pós-menopausa, com uma idade média de 60 anos. No entanto, aproximadamente 20% dos diagnósticos ocorrem em mulheres entre 40 e 50 anos de idade. A nível mundial, o câncer de corpo do útero está entre os seis tipos mais frequentes. Em 2020, foram estimados 417 mil novos casos, com uma taxa de incidência de 8,70 a cada 100 mil mulheres (Ferlay et al., 2021; Sung et al., 2021). O principal fator de predisposição ao tipo I do câncer de corpo do útero está associado ao aumento da produção natural de estrogênio, que pode ser influenciado por fatores como obesidade, menarca precoce, menopausa tardia, anovulação, nunca ter engravidado (nuliparidade), terapia de reposição hormonal e o uso de modulador seletivo de receptor de estrogênio para tratar câncer de mama. Outros elementos que também podem contribuir como fatores de risco são a síndrome de resistência à insulina, hipertensão, diabetes, síndrome do ovário policístico e falta de atividade física regular (Wild et al., 2020).

Na orofaringe, o carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (CECP) constitui-se de uma neoplasia maligna de diferentes localizações e se apresenta como o quinto tipo de câncer mais comum, sendo mais frequente em indivíduos do sexo masculino, entre a quinta e sexta década de vida (Döbrossy, 2015). Clinicamente, aparece como úlceras com bordas elevadas e base endurecida e, em seu estágio inicial, não apresenta sintomatologia dolorosa, afetando estruturas da boca como lábios, gengivas, palato e língua (Johnson et al., 2020). As estimativas

para o ano de 2023 segundo o INCA, é que o país terá 15.100 novos casos de câncer de boca, 10.900 em homens e 4.200 em mulheres (INCA, 2022).

Os principais fatores que elevam os números de incidência e mortalidade estão relacionados às dificuldades com o diagnóstico clínico e histológico precoce e a falta de marcadores moleculares adequados para tratamentos precisos (Ferlay et al., 2013). Os tumores malignos sólidos identificados nos estudos são caracterizados clinicamente como lesões endurecidas e o microambiente tumoral hipóxico está associado ao crescimento, metástase e resistência ao tratamento, o que pode levar a um prognóstico ruim (Meng et al., 2019). A principal semelhança observada entre o grupo de tumores é a rigidez da matriz extracelular (MEC), a qual exerce influência na migração e invasão das células tumorais.

A dureza da MEC emerge como uma característica comum nos tumores sólidos observados no estudo, podendo desempenhar um papel crucial no prognóstico e tratamento dessas neoplasias. A resistência desses tumores aos tratamentos convencionais tem sido associada ao insucesso, reforçando a necessidade de buscar abordagens terapêuticas inovadoras. Adicionalmente, os métodos de avaliação da rigidez apresentam um potencial promissor como uma ferramenta de monitoramento para diagnóstico precoce e preciso da progressão da doença. Portanto, investir em pesquisas que aprofundem o entendimento sobre essa característica é essencial para desenvolver estratégias terapêuticas mais eficazes, proporcionando aos pacientes uma perspectiva de tratamento mais otimista diante dos desafios impostos.

1.1 Biologia do câncer

A biologia de um tumor é compreendida através do estudo de diferentes tipos celulares dentro do TME e a interação entre as células tumorais e o estroma associado desempenha um papel fundamental na iniciação e progressão da doença (Hanahan e Weinberg, 2011). Para que uma célula normal mude seu fenótipo e se torne neoplásica, mutações genéticas devem ocorrer dentro da estrutura do DNA (Vogelstein et al., 2013). Essas mutações podem afetar a integridade e a funcionalidade dos genes envolvidos na regulação do ciclo celular, na reparação do DNA e na sinalização celular (Helleday et al., 2014).

A carcinogênese é o processo pelo qual as células se transformam em células cancerosas e passa por quatro etapas: iniciação, promoção, progressão e metástase. Na etapa de iniciação, ainda não é possível detectar o tumor clinicamente, as células sofrem o efeito dos agentes cancerígenos ou carcinógenos que provocam mutações em um ou mais genes. Na promoção, as células com as mutações iniciais começam a se multiplicar e formar um tumor inicial. Nessa fase, ocorrem alterações no ambiente celular e no tecido circundante que favorecem o crescimento das células tumorais (Izdebska et al., 2020). A penúltima destas fases, progressão, é a fase em que a célula adquire características cada vez mais agressivas, conferindo às células cancerígenas habilidades como crescimento acelerado, invasão de tecidos circundantes e capacidade de evadir os mecanismos de controle do sistema imunológico devido à enorme quantidade de mutações (Pickup et al., 2014). Na última fase, conhecida como metástase, as células cancerígenas se disseminam a partir do tumor original para outras partes do corpo, formando novos tumores em locais distantes (Izdebska et al., 2020).

À medida que o câncer progride, o microambiente circundante também evolui para um estado ativado por meio de interações tumor-estroma contínuas (Pietras & Ostman, 2010). Por essas razões, Hanahan e Weinberg, em 2000, propuseram 6 alterações fundamentais que acontecem na fisiologia celular e que são determinantes para o desenvolvimento do tumor. Estas alterações foram denominadas de “hallmarks of cancer” e incluem: capacidade proliferativa ilimitada, manutenção da sinalização para proliferação, escape dos supressores de crescimento, resistência a morte celular, indução de angiogênese e ativação da invasão tecidual e metástase (Hanahan e Weinberg, 2000).

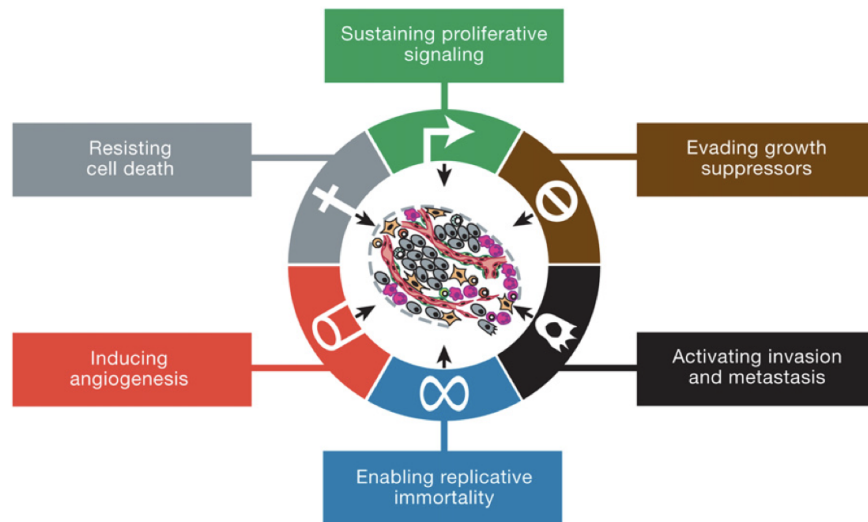


Figura 1. Características do câncer em 2000. As seis principais características incluem: sustentação da sinalização proliferativa, evitando os supressores de crescimento, resistindo à morte celular, permitindo a imortalidade replicativa, induzindo a angiogênese e ativando a invasão e a metástase (adaptado de Hanahan e Weinberg, 2000).

Mais tarde, em 2011, foram adicionadas outras quatro características. Duas delas foram denominadas como “características emergentes” (reprogramação do metabolismo celular e evasão do sistema imune); embora hoje, já são evidentes que estas características, assim como as seis originais, podem ser consideradas marcas principais do câncer. As outras duas características (instabilidade genômica e promoção de inflamação pelo tumor) foram retratadas como características habilitantes. Essas são consequências decorrentes da condição anormal da neoplasia que fornecem meios pelos quais células cancerígenas e tumores podem adotar as capacidades funcionais, ou seja, refletem nos mecanismos moleculares e celulares pelos quais as características funcionais são adquiridas (Hanahan e Weinberg, 2011).

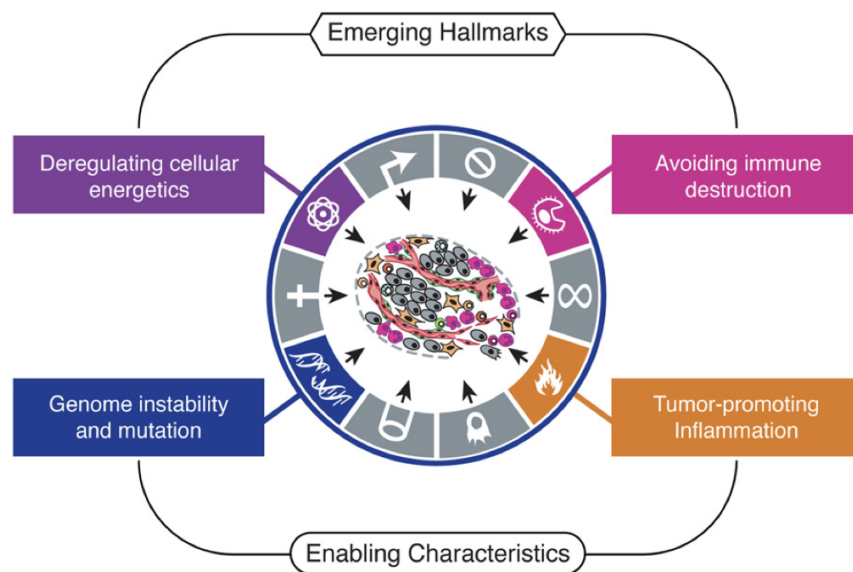


Figura 2. Características emergentes e habilitadoras do câncer atualizadas em 2011. As emergentes compreendem a reprogramação do metabolismo para suportar a proliferação neoplásica e evitar a destruição imunológica. Já as habilitadoras, incluem a instabilidade genômica gerando mutações impulsionadoras do crescimento tumoral e inflamação por células imunes que inadvertidamente promovem o tumor (adaptado de Hanahan e Weinberg, 2011).

Em 2022, a lista de características do TME foi atualizada, incluindo seis características previamente descritas, além de novas adições. As características emergentes são compostas pelo desbloqueio da plasticidade fenotípica e pelas células senescentes. Já as características capacitadoras consistem na reprogramação epigenética não mutacional e nos microbiomas polimórficos (Hanahan, 2022).

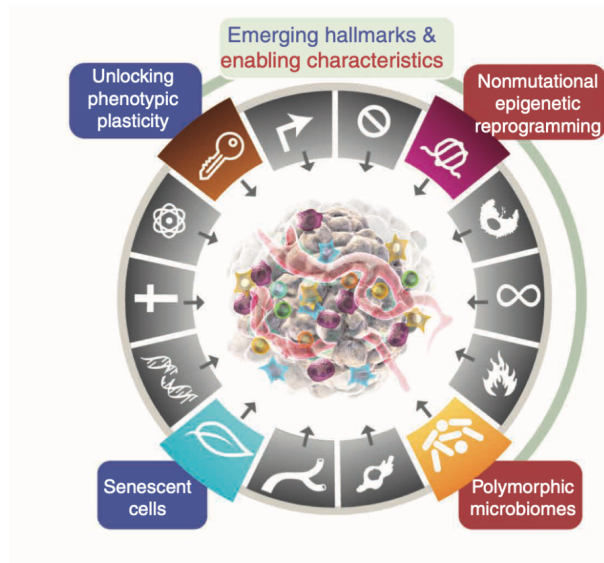


Figura 3. Resumo das características do câncer que foram adicionadas em 2022. Foi adicionado ainda características emergentes e capacitadoras, como desbloqueio da plasticidade fenotípica, reprogramação epigenética não mutacional, microbiomas polimórficos e células senescentes (adaptado de Hanahan, 2022).

Compreender as características distintas das células cancerígenas e dos mecanismos que impulsionam a progressão do tumor é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de prevenção, diagnóstico precoce, tratamentos mais eficazes e para entender a interação complexa entre as células e o TME.

1.2 Microambiente Tumoral (TME)

O conceito de microambiente tumoral trouxe novas possibilidades para compreender o comportamento das células cancerígenas e os elementos que impactam na agressividade do tumor. Ele é composto por diversas células, bem como a MEC que o rodeia. Neste microambiente, também fazem parte outros elementos, tais como citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e nutrientes (Joyce e Pollard, 2009; Rogers e Holen, 2011; Quail e Joyce, 2013; Weinstein e Storkus, 2015). A partir da interação destes com as células tumorais, o estroma desempenha um papel importante na promoção do crescimento e da progressão do tumor, além de influenciar a resposta imune no seu interior (Kalluri, 2016).

Segundo um estudo realizado por LeBleu (2015), o TME é caracterizado por uma complexa rede de interações dinâmicas, englobando fatores nos quais as células tumorais interagem de forma contínua e interdependente (LeBleu, 2015).

Didaticamente, esses fatores podem ser classificados em três categorias: fatores biológicos, químicos e físicos. Os biológicos incluem células residentes e recrutadas no tecido, os químicos envolvem metabólitos e fatores de crescimento, enquanto os físicos abrangem a topografia da MEC do ambiente e a sua rigidez. É importante ressaltar que o TME evolui ao longo do tempo, variando conforme o estágio do tumor e o órgão afetado (Clauset et al., 2021).

1.2.1 Fatores Biológicos do TME

Os fatores biológicos incluem células neoplásicas, fibroblastos associados ao tumor (CAFs), células endoteliais, pericitos e células inflamatórias, dentre outras. Os diferentes tipos celulares podem possuir ação antagonista entre atividades pró e anti-tumorais (Hanahan e Weinberg, 2011). Dentre todas as células, os fibroblastos são células do tecido conjuntivo que desempenham um papel crucial na manutenção da estrutura e função dos tecidos, incluindo a produção de componentes da MEC, como colágeno e elastina. Sua adaptação resiliente pode residir em seus programas intrínsecos de sobrevivência e plasticidade celular. Já os CAFs, passam por alterações em seu comportamento e função, tornando-se células que desempenham um papel ativo na progressão da doença, além de desempenhar um papel na criação da estrutura da MEC e na reprogramação metabólica e imunológica do TME, com impacto na resistência adaptativa à quimioterapia. Níveis variados de citocinas autócrinas e parácrinas, bem como outros fatores promotores de tumor, são secretados por eles para facilitar a proliferação tumoral, angiogênese, invasão, escape imune, resistência a drogas e metástase (Kalluri, 2016). Um estudo *in vitro* realizado por Magan et al. (2020) representa uma importante contribuição para a compreensão do papel dos CAFs no microambiente tumoral de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço (CECP). Através de experimentos controlados em culturas de células, os pesquisadores conseguiram investigar de forma mais detalhada a interação entre os CAFs e as células tumorais de CECP. O estudo mostrou que esse tipo celular pode influenciar positivamente a taxa de crescimento das células cancerígenas, levando a uma maior expansão das células tumorais de CECP, aumentando o tamanho do tumor e também sua agressividade, interferindo no prognóstico. Outro achado significativo foi a alteração na expressão do receptor

do fator de crescimento epidérmico (EGFR) nas células tumorais em resposta à presença das CAFs (Magan et al., 2020).

Entre os *hallmarks* do câncer, o processo de angiogênese desempenha importante papel na tumorigênese (Hanahan e Weinberg, 2000). À medida que o tumor cresce, ele precisa de um suprimento adequado de oxigênio e nutrientes para sustentar seu crescimento e metabolismo. Desde 1971, quando Folkman propôs sua teoria sobre a associação entre angiogênese e crescimento tumoral, diversos estudos têm sido conduzidos para explorar as possibilidades de cura do câncer por meio do controle desse processo. A formação de novos vasos na massa tumoral traz vantagens, como maior acesso a nutrientes, oxigênio e remoção de metabólitos, mas também promove a invasão e disseminação das células tumorais para tecidos distantes. Durante a hipóxia, as células tumorais secretam o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), estimulando as células endoteliais a formarem novos vasos sanguíneos no interior do tumor (Li et al., 2018). Além disso, evidências demonstram que outras células do microambiente tumoral podem induzir a angiogênese (Cassetta e Pollard, 2023) e os fatores liberados pelas células endoteliais também influenciam as células tumorais (Cao et al., 2014). Essa interação positiva entre as células tumorais e as células endoteliais estabelece um ciclo que impulsiona a progressão do tumor.

Muitos tipos de câncer frequentemente apresentam inflamação como uma característica comum no microambiente tumoral. A inflamação crônica pode surgir de várias fontes, como infecções, lesões teciduais repetidas ou condições inflamatórias pré-existentes. As células inflamatórias incluem macrófagos, linfócitos T e B, neutrófilos e células dendríticas, as quais secretam uma variedade de mediadores inflamatórios, como citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e fatores de crescimento (Davoodzadeh et al., 2017). Os macrófagos M1 classicamente ativados são células efetoras potentes que matam microorganismos e células tumorais e produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias. Por outro lado, as células M2 sintonizam as respostas inflamatórias e a imunidade Th1 adaptativa, limpam os detritos e promovem a angiogênese, remodelação e reparo tecidual (Mantovani et al, 2002).

Em uma revisão sistemática que investigou o papel dos macrófagos no prognóstico de pacientes com CECP, os resultados revelaram uma associação significativa entre uma alta presença de macrófagos e uma pior sobrevida dos

pacientes. Especificamente, a análise dos marcadores CD68 e CD163, que indicam a presença de macrófagos do tipo M2, e CD11c, associado ao subtipo M1, demonstrou que maiores concentrações desses subtipos de macrófagos estavam relacionadas a taxas desfavoráveis de sobrevida (Alves et al., 2018). Os avanços recentes no campo da imunoterapia têm apresentado um potencial revolucionário para aprimorar o tratamento do câncer e mitigar os efeitos colaterais adversos. Como exemplo, a utilização de células T geneticamente modificadas através da transferência adotiva, expressando receptores quiméricos de antígeno (CARs), tem demonstrado resultados encorajadores no tratamento da leucemia linfocítica aguda (um tipo de câncer sanguíneo), alcançando até 90% de taxa de sobrevida em cinco anos. Contudo, este tratamento tem sido significativamente limitado em tumores sólidos (D'Aloia MM et al., 2018).

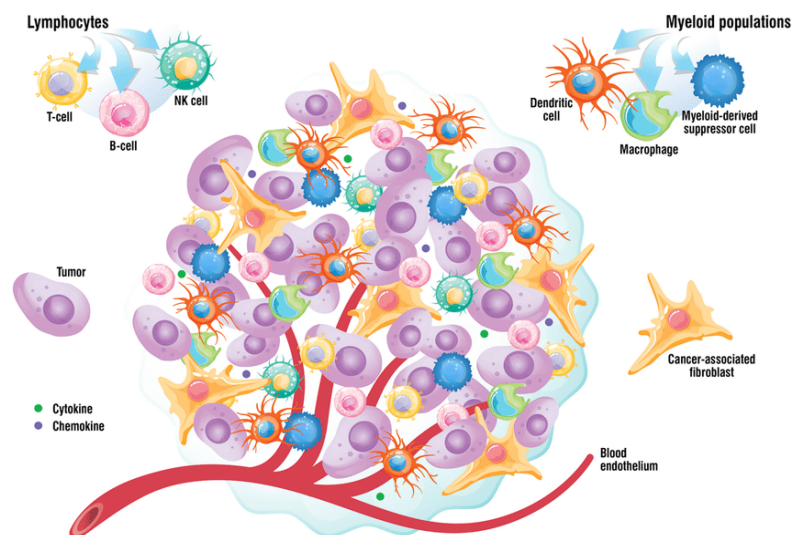


Figura 4. Diferentes elementos que compõem o microambiente tumoral. Estes incluem tanto células quanto elementos não celulares, como células cancerígenas, endoteliais, pericitos, fibroblastos associados ao câncer, células imunes e a matriz extracelular, que é o componente não celular e que atua como andaime para a interação entre citocinas, quimiocinas e vesículas extracelulares (adaptado de Cui and Guo., 2016).

1.2.2 Fatores Químicos do TME

No microambiente tumoral (TME), as células se comunicam entre si por meio de uma complexa rede de sinalização que envolve a liberação de vários fatores, como fatores de crescimento, citocinas e vesículas extracelulares. Entre as citocinas comumente produzidas por células tumorais no TME, destacam-se a interleucina-6

(IL-6), interleucina-8 (IL-8), interleucina-10 (IL-10), interleucina-4 (IL-4), interleucina-12 (IL-12), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β) (Lippitz, 2013). Essas citocinas desempenham papéis importantes na regulação da resposta imune, inflamação e progressão tumoral. Dentre elas, a IL-6 destaca-se por ser uma citocina pró-inflamatória que está associada a vários processos tumorais, incluindo proliferação celular, sobrevivência das células tumorais, angiogênese e resposta imune (Rose-John et al., 2017). Sua produção aumentada no TME tem sido associada a um prognóstico desfavorável em vários tipos de câncer, incluindo CECP. Em um estudo realizado por Jinno et al. (2015), foi examinada a associação da expressão de IL-6 em células cancerígenas com fatores clínico-patológicos em pacientes portadores de CECP por imunocoloração, onde o resultado revelou que a expressão aumentada foi observada com mais frequência em pacientes com estágio clínico avançado, metástase em linfonodos cervicais ou metástase à distância (Jinno et al., 2015). Além disso, a interação entre a IL-6 e seu receptor desencadeia a homodimerização da gp130, ativando diversas vias de sinalização, incluindo JAK-STAT, Ras-MAPK e PI3K-Akt (Kishimoto, 2005; Hirano, 1997). Observou-se que o receptor de IL-6 (IL-6R), transdutor de sinal de fosforilação e ativador da transcrição 3 (p-STAT3) estava em consonância com a expressão de IL-6 em quase todas as células de CECP do grupo com alta expressão de IL-6, enquanto era ausente ou fraca no grupo com expressão negativa ou baixa (Rose-John et al., 2017). Essas descobertas destacam a importância dessa variedade de fatores como sendo alvos potenciais para o desenvolvimento de terapias direcionadas no tratamento do câncer.

Um outro estudo analisou a interação da via de sinalização IL-6-STAT3 com a migração celular em células de CECP. Inicialmente, as células foram tratadas com Stattic, um inibidor da fosforilação do STAT3, antes de receberem o estímulo da IL-6 (Schust et al., 2006) (figura 5A). Notou-se que a inibição da fosforilação do STAT3 bloqueou o aumento mediado por IL-6 nas propriedades de migração celular. Posteriormente, os pesquisadores investigaram um possível mecanismo de ação da via de sinalização IL-6-STAT3 relacionado à migração celular, focando na atividade de uma proteína denominada RhoGTPase Rac1. Quando as células foram estimuladas com IL-6, houve um aumento de aproximadamente 25% na ativação de Rac1, enquanto a presença do Stattic manteve os níveis de ativação do Rac1 semelhantes ao controle. Em síntese, os resultados demonstram que a IL-6 exerce

uma influência positiva no comportamento de migração das células do CEP que passaram por EMT (transição epitelial-mesenquimal). Essa influência é mediada pela via de sinalização IL-6-STAT3, a qual afeta a atividade da proteína RhoGTPase Rac1. Essa regulação pode estar relacionada à maior capacidade de invasão tumoral e à formação de metástases em células desse tipo de tumor (Alves et al., 2021).

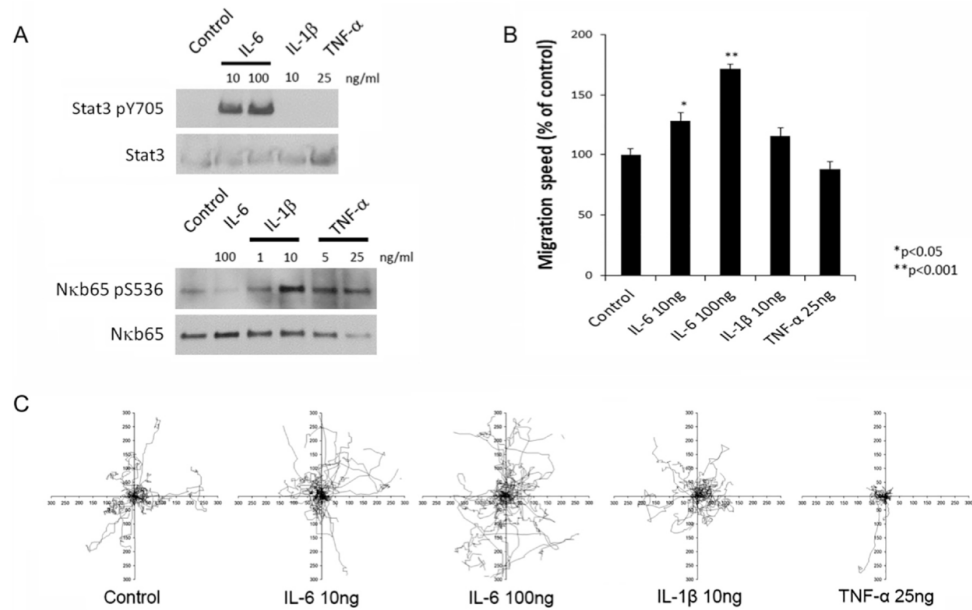


Figura 5. Reação do SCC25 diante de estímulos inflamatórios. (A) Western blotting de STAT3 pY705 e Nkb65 pS536 na linhagem celular SCC25, demonstrando ativação da via de sinalização por fosforilação. (B) Avaliação da velocidade de migração da linha celular SCC25 em resposta a citocinas inflamatórias. O tratamento com IL-6 aumentou a velocidade de migração comparado ao controle. (C) Gráficos de plotagem polar do SCC25 sob influência de citocinas inflamatórias onde cada linha representa um tipo de célula. O tratamento com IL-6 aprimorou a direcionalidade, independentemente da dose. (adaptado de Alves et al., 2021).

1.2.3. Fatores Físicos do TME

Os fatores físicos que compreendem e auxiliam na iniciação e progressão tumoral são: rigidez da MEC, composição, topografia e porosidade. A rigidez mede a quantidade de força necessária para induzir uma mudança no comprimento. Ela não é igual ao modo de elasticidade e depende da composição, arquitetura e forças atuantes, variando de tecidos moles e deformáveis, como o cérebro, o qual apresenta um estroma rico em glicosaminoglicanos (GAG) ao redor das redes

celulares (rigidez abaixo de 1,0 kPa) (Swift et al, 2013) a tecidos rígidos e não deformáveis, como o colágeno (rigidez de 0,2 e 2 kPa) (Wolf, K. et al., 2013) ou o osso cortical (rigidez de 15 GPa) (Zioupos e Currey, 1998). As células têm a capacidade de reconhecer a rigidez do substrato no qual estão aderidas e reagir a ele por meio de receptores de adesão, como as integrinas, que atuam como uma "embreagem molecular". Esses receptores convertem o fluxo retrógrado da actina em forças de tração direcionadas ao substrato (Mitchison & Kirschner, 1988). É composta por uma variedade de componentes, incluindo colágeno, fibronectina, proteoglicanos e outras proteínas estruturais. Sua composição pode ser alterada, com um aumento na deposição de certos componentes, como colágeno, o qual pode ser modificado para coordenar ainda mais as propriedades biológicas das células cancerígenas, incluindo várias mutações genéticas, fatores de transcrição, vias de transdução de sinal e receptores (Xu et al., 2019). A topologia compreende redes poliméricas e proteínas fibrilares ou em forma de folha, aleatoriamente ou orientadas. As redes fibrilares fornecem espaço e pontos de ancoragem para células em deslocamento. Tecidos com funções mecânicas altamente exigentes são altamente ordenados, enquanto tecidos ricos em colágeno de cicatrizes são altamente organizados. Já a porosidade é uma característica importante dos tecidos biológicos e refere-se à presença de espaços vazios ou canais interconectados dentro da MEC. Também é importante para a migração celular, pois as células podem se mover através desses espaços para cicatrizar feridas, responder a lesões ou participar de processos de desenvolvimento e crescimento. Os miofibroblastos e células tumorais colaboram na reorganização da topologia do tecido, alinhando e agrupando as fibras de colágeno, formando novos corredores com largura de célula única para facilitar a orientação das células cancerígenas ao longo de caminhos de menor resistência. Essa colaboração também promove o bloqueio parcial das células e facilita a transição para a invasão coletiva (van Helvert et al., 2018).

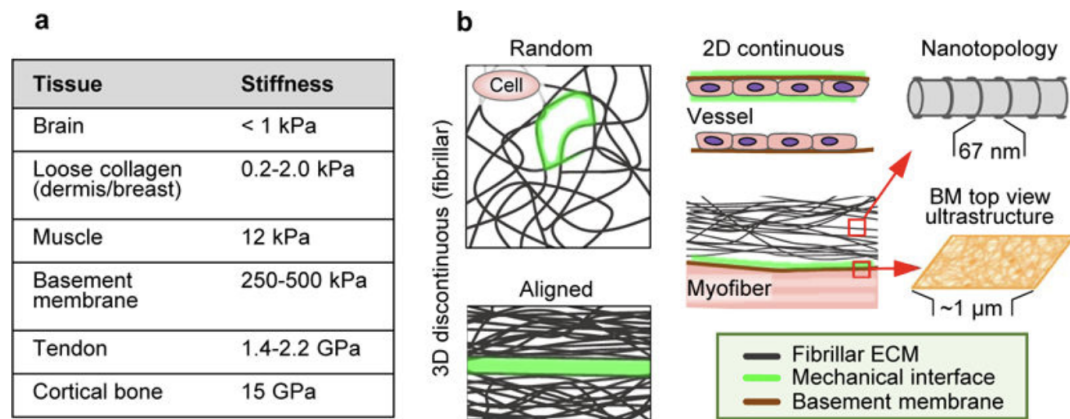


Figura 6. Propriedades físicas da MEC. (A) Variação na elasticidade dos tecidos. Tecidos macios incluem o estroma cerebral (abaixo de 1,0 kPa), redes de colágeno poroso (0,2 a 2 kPa), feixes densos de colágeno em músculos (12 kPa). Membranas basais como colágeno tipo IV e lamininas, possuem rigidez mais alta. O tecido calcificado, como o osso cortical, pode chegar a 15 GPa. (B) Principais estruturas da matriz extracelular que moldam interações de migração celular (marcadas em verde), envolvendo arranjos 1D, 2D e 3D, além da nanotopologia (adaptado de Van Helvert et al., 2018).

A desregulação da sinalização celular, plasticidade celular, plasticidade fenotípica e microambiente tumoral específico são algumas possíveis razões pelas quais as células tumorais apresentam insensibilidade à topografia do ambiente. O estudo de Dalby et al mostrou que a topografia de superfícies e substratos em que as células crescem pode modular a expressão de genes relacionados à síntese e remodelação do colágeno. Ou seja, superfícies com diferentes texturas ou padrões podem influenciar a organização e a deposição de fibras de colágeno pelas células (Dalby et al., 2007). Em relação ao câncer bucal, pesquisas têm mostrado que, superfícies com diferentes texturas ou padrões, influenciam a adesão, a migração e a proliferação de células de CECP. Superfícies com microtopografia ou nanopartículas podem promover uma maior adesão celular e estimular a proliferação de células do tumor em comparação com superfícies lisas. Ao responder aos sinais mecânicos da rigidez, ordem e porosidade da matriz, as células migratórias ajustam suas funções celulares mecanicamente integradas, incluindo adesão, geração de força, protrusão, deformação e direcionamento persistente. Além das mudanças transitórias nos componentes durante a migração celular, também ocorre uma remodelação permanente da MEC por meio de processos enzimáticos que alteram a composição e organização do tecido. A integração dos módulos celulares relacionados à mecanotransdução ocorre através da conversão de sinais mecânicos

em respostas bioquímicas e biológicas. No nível celular, o citoesqueleto de actina determina a força de adesão e a forma da célula, permitindo a geração de forças de tração ou empurrão para a migração celular e a remodelação do tecido. No nível molecular, proteínas mecanorresponsivas, como integrinas e cadherinas, respondem à tensão mecânica alterando sua conformação e ativando vias de sinalização intracelular ou estabelecendo conexões adesivas com a matriz extracelular ou outras células. Essas respostas adaptativas nos níveis celular e molecular permitem que as células migrem e respondam às propriedades mecânicas do ambiente, desempenhando um papel crucial na remodelação da matriz extracelular e na diferenciação celular durante o desenvolvimento, homeostase e doenças, incluindo o desenvolvimento do câncer (van Helvert et al., 2018).

Nosso grupo de pesquisa recentemente demonstrou que células e CECp apresentam melhor performance migratório quando plaqueadas em ambiente rígido (20kPa) e que, após replaqueio em ambiente macio (0,5kPa) as células mantêm o seu desempenho migratório, sugerindo a existência de uma memória mecânica (Matte et al., 2019). Esta memória mecânica pode ser obtida por um aumento da contratilidade celular e ativação de vias de sinalização como AKT, enquanto a recuperação/ativação da memória mecânica depende de ativação de FAK (Moon et al., 2023). Dados preliminares (ainda não publicados) indicam que tanto a aquisição quanto a consolidação da memória mecânica envolvem alterações epigenéticas com a metilação e acetilação de Histona 3, as quais repercutem em expressão gênica diferenciada nas células plaqueadas em ambiente rígido. Estes dados em conjunto sugerem que a dureza do ambiente pode induzir a aquisição de um fenótipo mais agressivo das células tumorais de CECp durante o processo de invasão e metástase, o qual poderia ser conservado em outros tumores.

1.3 Matriz Extracelular (MEC)

Nos diferentes tecidos e órgãos, uma combinação de células e elementos não celulares interagem para criar uma rede tridimensional macromolecular conhecida como MEC (Frantz et al., 2010). Composta por colágenos, proteoglicanos/glicosaminoglicanos, elastina, fibronectina, lamininas e diversas outras glicoproteínas, essa matriz desempenha um papel fundamental no microambiente tumoral, exercendo influência sobre a heterogeneidade e

complexidade dos tumores, enquanto simultaneamente vai regulando o desenvolvimento tecidual e a homeostase (Theocharis et al., 2016).

Além de atuar como um reservatório de múltiplos fatores de sinalização, ela desempenha um papel essencial na comunicação das células, transmitindo informações cruciais sobre sua interação adequada por meio de receptores (Bandzerewicz, Gadomska-Gajadhur, 2022). Essa comunicação celular é vital para a coordenação de processos biológicos, incluindo a diferenciação celular, a migração e a resposta a estímulos externos. A desregulação desta matriz, por sua vez, está intrinsecamente ligada à progressão neoplásica (Franco et al., 2009; Liotta e Kohn, 2001), onde o desequilíbrio na composição e nas propriedades físicas pode criar um ambiente propício para a proliferação descontrolada das células tumorais, invasão dos tecidos circundantes e a formação de metástases distantes (Hanahan e Weinberg, 2011). Além disso, a MEC alterada no microambiente tumoral pode influenciar a resposta do sistema imunológico, facilitando a evasão imunológica das células tumorais e comprometendo a eficácia da vigilância imunológica antitumoral (Gajewski et al., 2013).

A rigidez da matriz extracelular tem se mostrado crucial na sinalização e no comportamento das células tumorais. Mecanismos envolvendo moléculas e vias de sinalização respondem às propriedades físicas do ambiente em que as células estão inseridas, incluindo sua rigidez. A MEC mais rígida associada a tumores pode ativar vias que estimulam a proliferação, a migração e a resistência a tratamentos, contribuindo para uma maior agressividade do câncer.

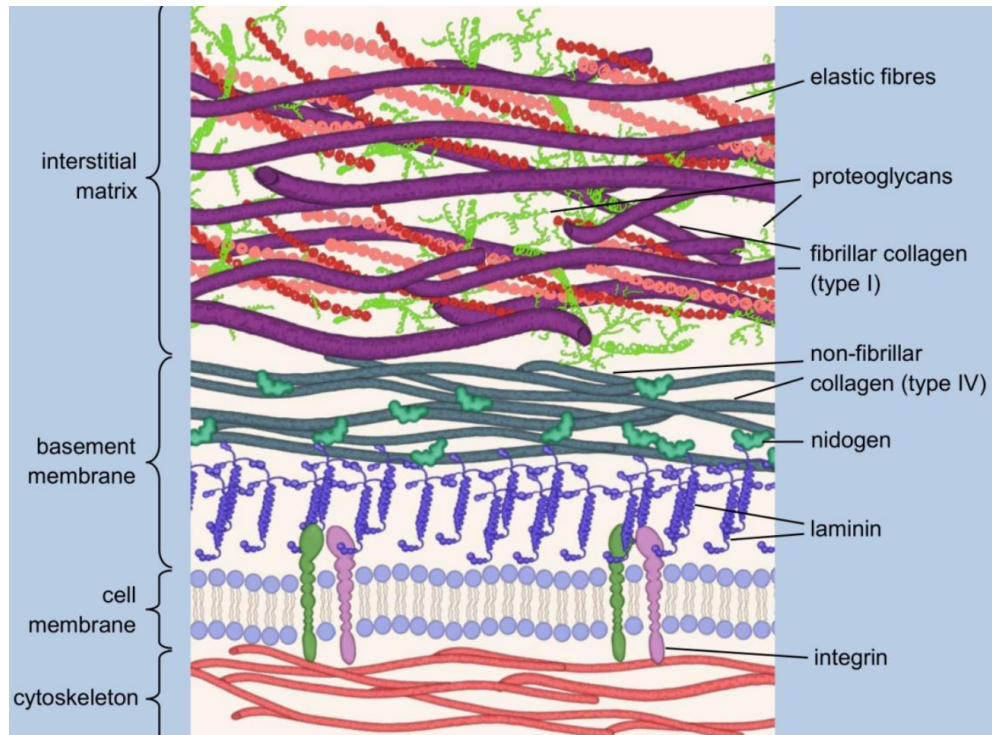


Figura 7. Ilustração simplificada da matriz extracelular. Adjacente às células, encontra-se a matriz pericelular, na qual as integrinas conectam-se à laminina polimerizada. A laminina se liga através do nidogênio com o colágeno tipo IV. A matriz intersticial forma uma estrutura tridimensional composta por colágenos fibrilares, fibras elásticas e proteoglicanos (adaptado de Bandzerewicz, Gadomska-Gajadur., 2022).

1.3.1 Rigidez e Degradação da Matriz Extracelular (MEC)

A rigidez da MEC é um fenômeno crítico bastante frequente durante a progressão tumoral, passando por extensa remodelação e ocasionando alterações em sua densidade e composição (Urbanski et al., 2018). Essas alterações incluem rearranjo, reticulação e deposição junto com a degradação de proteínas específicas. Duas principais modificações são observadas: rigidez e degradação. A rigidez ocasiona um aumento da ligação cruzada entre as proteínas, enquanto a degradação, é causada pela interrupção dessa ligação cruzada (Najafi et al., 2019). Quando isso acontece, a MEC passa a contribuir ativamente para a histopatologia e comportamento do tumor. Por exemplo, a reação desmoplásica, ocasiona a formação de tecido fibroso ao seu redor ou perto, caracterizada pelo aumento da deposição, uma organização alterada e modificações pós-traducionais aprimoradas das proteínas da matriz (Pickup et al., 2014).

A proteína mais frequente dentro do estroma que sofre desregulação metabólica no câncer é o colágeno, o qual influencia na densidade do tecido (Insua-Rodriguez, Oskarsson, 2016). A reorganização e a reticulação do colágeno aumentada no citoesqueleto de actina, favorecem a migração das células cancerígenas e elas funcionam como “*highways*” invadindo o tecido adjacente (Gilkes et al., 2014). Um estudo feito em pacientes que apresentaram cirrose hepática ou fibrose cística, que são condições caracterizadas pelo acúmulo anormal de colágeno, possuíram um risco aumentado de desenvolver câncer. Sendo assim, a fibrose também pode predispor um tecido à malignidade (Sorensen et al., 1998; Neglia et al., 1995).

A dureza pode ser medida através de diversas técnicas. As mais comuns incluem: elastografia por ressonância magnética (MRI), a qual é frequentemente usada para detectar tumores hepáticos e caracterizá-los, pois distingue entre tecido saudável e tecido tumoral com base na sua dureza relativa (Venkatesh et al., 2013). Já a elastografia por ultrassom, utiliza ondas de ultrassom para medir a elasticidade dos tecidos. É amplamente usada na avaliação de tumores, especialmente na mama e na próstata, para auxiliar no diagnóstico e no monitoramento de alterações na dureza do tecido (Nightingale K, 2011). A elastografia de cisalhamento (SWE), utiliza um pulso de cisalhamento para medir a rigidez dos tecidos, sendo frequentemente aplicada em órgãos como o fígado para avaliar a fibrose hepática, o que é importante para o diagnóstico de doenças hepáticas crônicas (Cosgrove et al., 2013). A elastografia transiente (TE), também conhecida como Fibroscan, é uma técnica específica para avaliação da rigidez do fígado. Ela usa ondas de ultrassom de baixa frequência para medir a dureza hepática, sendo bastante útil no diagnóstico de cirrose hepática (Castéra, 2005). A elastografia por impulso de força de radiação acústica (ARFI) é uma técnica de ultrassom que mede a dureza dos tecidos por meio de pulsos de radiação acústica. É utilizada em diversas aplicações, incluindo a avaliação de tumores de mama, tireoide e próstata, auxiliando na detecção precoce e na diferenciação de lesões (Brás, 2022). A elastografia de cisalhamento ultrassônico comb-push (CUSE) é uma técnica avançada de elastografia por ultrassom que utiliza múltiplos pulsos de ultrassom para gerar imagens de alta resolução da rigidez dos tecidos. Ela é aplicada em várias áreas, incluindo a detecção e caracterização de tumores em diferentes órgãos (Song, 2012).

Essa rigidez do tumor, avaliada por meio de técnicas de elastografia, pode desempenhar um papel fundamental como um importante fator preditivo para a disseminação do câncer. Além disso, no contexto dos resultados clínicos, a determinação da rigidez pode ser um indicador útil e informativo para auxiliar nas decisões sobre opções de tratamento e fornecendo insights valiosos sobre a progressão da doença e possíveis estratégias terapêuticas a serem adotadas. Portanto, compreender a relação entre a rigidez do tumor e o câncer desempenha um papel crucial na gestão eficaz da doença e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes afetados.

2. HIPÓTESE DO ESTUDO

A hipótese deste trabalho é a de que existe uma correlação entre a rigidez tumoral e um pior prognóstico para pacientes com tumores malignos sólidos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar o impacto da rigidez do tecido tumoral no prognóstico de pacientes com tumores malignos sólidos.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar uma revisão sistemática para avaliar a relação da dureza de tumores e o prognóstico de pacientes com tumores malignos sólidos;
- Analisar os diferentes métodos utilizados nos estudos para medir a rigidez tumoral;
- Realizar meta-análise dos dados obtidos de acordo com o tipo de tumor;
- Analisar as evidências existentes na área de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço.

4. CONCLUSÕES

As principais conclusões desta dissertação são:

- A rigidez do tecido tumoral é um fator crítico na progressão de diferentes tipos de tumores sólidos;
- O método elastografia por ondas de cisalhamento (SWE) foi o mais comumente utilizado para medir a rigidez de lesões tumorais;
- Os estudos demonstraram que a rigidez do tecido tumoral está associada com um pior prognóstico nos tumores de fígado, mama, cérebro e endométrio;
- Não foram encontrados estudos demonstrando a análise da rigidez do carcinoma espinocelular oral.

5. PERSPECTIVAS

Os tumores sólidos apresentaram um tecido mais rígido em comparação com o tecido normal devido a alterações na MEC e na estrutura das células. Esse endurecimento do tecido tumoral pode influenciar a migração e a invasão celular tumoral, bem como a resistência à terapia, afetando a resposta do tumor a radioterapia ou quimioterapia e dificultando a penetração das drogas no seu interior. Nesse sentido, entender as características do microambiente tumoral é importante para a compreensão da biologia do câncer e o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Uma das possibilidades é a realização de ensaios clínicos com os pacientes (*clinical trials*), os quais poderiam utilizar medicamentos para modificar a rigidez do tecido tumoral, tornando-o mais similar ao tecido normal e, conseqüentemente, inibindo a migração e a invasão celular. Além disso, o desenvolvimento de técnicas não invasivas para a avaliação da rigidez do tecido tumoral pode ser uma ferramenta valiosa para o diagnóstico precoce e o monitoramento da progressão do câncer.

Para a Odontologia, é essencial aprofundar os estudos sobre a relação entre a rigidez do tecido tumoral e o CECP de distúrbios orais potencialmente malignos, dada a escassez de trabalhos nessa área específica. É igualmente crucial realizar trabalhos interdisciplinares e multiprofissionais para o desenvolvimento e a aplicação de técnicas não invasivas para avaliar o tecido tumoral, a fim de facilitar o diagnóstico precoce e o acompanhamento da evolução da doença. Neste contexto, a metodologia de elastografia por ondas de cisalhamento (SWE) pode ser promissora por apresentar facilidade de análise bem como baixo custo operacional. Além disso, é importante investigar outras características do microambiente tumoral, como a hipóxia e a inflamação, que também desempenham um papel na progressão da doença. A compreensão desses elementos pode fornecer informações valiosas para o desenvolvimento de novas terapias e aprimoramento da eficácia no tratamento do câncer. Essas perspectivas promissoras poderiam contribuir para avanços significativos no campo da oncologia e, por sua vez, melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, A.; DIEHL, L.; RAMOS, G.; PINTO, A. *et al.* Tumor microenvironment and Oral Squamous Cell Carcinoma: A crosstalk between the inflammatory state and tumor cell migration. *Oral Oncol*, 112, p. 105038, Jan 2021.

ALVES, A. M.; DIEHL, L. F.; LAMERS, M. L. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. *J Oral Pathol Med*, 47, n. 5, p. 460-467, May 2018.

ASIF, H. M.; SULTANA, S.; AKHTAR, N.; REHMAN, J. U. *et al.* Prevalence, risk factors and disease knowledge of breast cancer in Pakistan. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15, n. 11, p. 4411-4416, 2014.

BAFFY, G.; BRUNT, E. M.; CALDWELL, S. H. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease: an emerging menace. *J Hepatol*, 56, n. 6, p. 1384-1391, Jun 2012.

BANDZEREWICZ, A.; GADOMSKA-GAJADHUR, A. Into the Tissues: Extracellular Matrix and Its Artificial Substitutes: Cell Signalling Mechanisms. *Cells*, 11, n. 5, Mar 07 2022.

BRÁS, M. M.; CRUZ, T. B.; MAIA, A. F.; OLIVEIRA, M. J. *et al.* Mechanical Properties of Colorectal Cancer Cells Determined by Dynamic Atomic Force Microscopy: A Novel Biomarker. *Cancers (Basel)*, 14, n. 20, Oct 15 2022.

BUTCHER, D. T., ALLISTON, T. and WEAVER, V. M. (2009). A tense situation: forcing tumour progression. *Nat. Rev. Cancer* 9, 108-122.

CAO, Z.; DING, B. S.; GUO, P.; LEE, S. B. *et al.* Angiocrine factors deployed by tumor vascular niche induce B cell lymphoma invasiveness and chemoresistance. *Cancer Cell*, 25, n. 3, p. 350-365, Mar 17 2014.

CASTÉRA, L.; VERGNIOL, J.; FOUCHER, J.; LE BAIL, B. *et al.* Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*, 128, n. 2, p. 343-350, Feb 2005.

CASSETTA, L.; POLLARD, J. W. A timeline of tumour-associated macrophage biology. *Nat Rev Cancer*, 23, n. 4, p. 238-257, Apr 2023.

CHEN, W.; ZHENG, R.; BAADE, P. D.; ZHANG, S. *et al.* Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 66, n. 2, p. 115-132, 2016.

CLAUSET, A.; BEHBAKHT, K.; BITLER, B. G. Decoding the dynamic tumor microenvironment. *Sci Adv*, 7, n. 23, Jun 2021

COSGROVE, D.; PISCAGLIA, F.; BAMBER, J.; BOJUNGA, J.; CORREAS, J. M.; GILJA, O. H.; KLAUSER, A. S.; SPOREA, I.; CALLIADA, F.; CANTISANI, V.; D'ONOFRIO, M.; DRAGONAKI, E. E.; FINK, M.; FRIEDRICH-RUST, M.; FROMAGEAU, J. HAVRE, R. F.; JENSSEN, C.; OHLINGER, R.; SAFTOIU, A.; SCHAEFER, F.; DIETRICH, C. F.; EFSUMB. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 2: Clinical applications. *Ultraschall Med*, 34, n. 3, p. 238-53, Jun 2013.

CUI, Y.; GUO, G. Immunomodulatory Function of the Tumor Suppressor p53 in Host Immune Response and the Tumor Microenvironment. *Int J Mol Sci*, 17, n. 11, Nov 19 2016.

D'ALOIA, M. M.; ZIZZARI, I. G.; SACCHETTI, B.; PIERELLI, L. *et al.* CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors. *Cell Death Dis*, 9, n. 3, p. 282, Feb 15 2018.

DALBY, M. J.; GADEGAARD, N.; TARE, R.; ANDAR, A. *et al.* The control of human mesenchymal cell differentiation using nanoscale symmetry and disorder. *Nat Mater*, 6, n. 12, p. 997-1003, Dec 2007.

DAVOODZADEH GHOLAMI, M.; KARDAR, G. A.; SAEEDI, Y.; HEYDARI, S. *et al.* Exhaustion of T lymphocytes in the tumor microenvironment: Significance and effective mechanisms. *Cell Immunol*, 322, p. 1-14, Dec 2017.

DÖBROSSY, L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer Metastasis Rev*, 24, n. 1, p. 9-17, Jan 2005.

EASLOFFICE@EASLOFFICE.EU, E. A. F. T. S. O. T. L. E. A.; LIVER, E. A. F. T. S. O. T. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 69, n. 1, p. 182-236, Jul 2018.

FERLAY, J.; STELIAROVA-FOUCHER, E.; LORTET-TIEULENT, J.; ROSSO, S. *et al.* Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*, 49, n. 6, p. 1374-1403, Apr 2013.

FRANCO, O. E.; SHAW, A. K.; STRAND, D. W.; HAYWARD, S. W. Cancer associated fibroblasts in cancer pathogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 21, n. 1, p. 33-39, Feb 2010.

FRANTZ, C.; STEWART, K. M.; WEAVER, V. M. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci*, 123, n. Pt 24, p. 4195-4200, Dec 15 2010.

GAJEWSKI, T. F.; SCHREIBER, H.; FU, Y. X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*, 14, n. 10, p. 1014-1022, Oct 2013.

GILKES, D. M.; SEMENZA, G. L.; WIRTZ, D. Hypoxia and the extracellular matrix: drivers of tumour metastasis. *Nat Rev Cancer*, 14, n. 6, p. 430-439, Jun 2014.

HANAHAN, D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*, 12, n. 1, p. 31-46, Jan 2022.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100, n. 1, p. 57-70, Jan 07 2000.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144, n. 5, p. 646-674, Mar 04 2011.

HAUMANN, R.; VIDEIRA, J. C.; KASPERS, G. J. L.; VAN VUURDEN, D. G. *et al.* Overview of Current Drug Delivery Methods Across the Blood-Brain Barrier for the Treatment of Primary Brain Tumors. *CNS Drugs*, 34, n. 11, p. 1121-1131, Nov 2020.

HELLEDAY, T.; ESHTAD, S.; NIK-ZAINAL, S. Mechanisms underlying mutational signatures in human cancers. *Nat Rev Genet*, 15, n. 9, p. 585-598, Sep 2014.

HIRANO, T.; NAKAJIMA, K.; HIBI, M. Signaling mechanisms through gp130: a model of the cytokine system. *Cytokine Growth Factor Rev*, 8, n. 4, p. 241-252, Dec 1997.

HOODESHENAS, S.; YIN, M.; VENKATESH, S. K. Magnetic Resonance Elastography of Liver: Current Update. *Top Magn Reson Imaging*, 27, n. 5, p. 319-333, Oct 2018.

IZDEBSKA, M.; ZIELIŃSKA, W.; HAŁAS-WIŚNIEWSKA, M.; GRZANKA, A. Involvement of Actin and Actin-Binding Proteins in Carcinogenesis. *Cells*, 9, n. 10, Oct 06 2020.

JINNO, T.; KAWANO, S.; MARUSE, Y.; MATSUBARA, R. *et al.* Increased expression of interleukin-6 predicts poor response to chemoradiotherapy and unfavorable prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*, 33, n. 5, p. 2161-2168, May 2015.

JOHNSON, D. E.; BURTNES, B.; LEEMANS, C. R.; LUI, V. W. Y. *et al.* Author Correction: Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 9, n. 1, p. 4, Jan 19 2023.

JOYCE, J. A.; POLLARD, J. W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*, 9, n. 4, p. 239-252, Apr 2009.

KALLURI, R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 16, n. 9, p. 582-598, Aug 23 2016.

KASS, L., ERLER, J. T., DEMBO, M. and WEAVER, V. M. (2007). Mammary epithelial cell: influence of extracellular matrix composition and organization during development and tumorigenesis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 39, 1987-1994.

KISHIMOTO, T. Interleukin-6: from basic science to medicine--40 years in immunology. *Annu Rev Immunol*, 23, p. 1-21, 2005.

LEBLEU, V. S. Imaging the Tumor Microenvironment. *Cancer J*, 21, n. 3, p. 174-178, 2015.

LEVENTAL, K. R., Yu, H., KASS, L., LAKINS, J. N., EGEGLAD, M., ERLER, J. T., FONG, S. F., CSISZAR, K., GIACCIA, A., WENINGER, W. et al. (2009). Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell* 139, 891-906.

LEVIN, V. A.; TONGE, P. J.; GALLO, J. M.; BIRTWISTLE, M. R. *et al.* CNS Anticancer Drug Discovery and Development Conference White Paper. *Neuro Oncol*, 17 Suppl 6, n. Suppl 6, p. vi1-26, Nov 2015.

LI, T.; KANG, G.; WANG, T.; HUANG, H. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Oncol Lett*, 16, n. 1, p. 687-702, Jul 2018.

LI, Y.; XU, C. Human Papillomavirus-Related Cancers. *Adv Exp Med Biol*, 1018, p. 23-34, 2017.

LIPPITZ, B. E. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol*, 14, n. 6, p. e218-228, May 2013.

MAGAN, M.; WIECHEC, E.; ROBERG, K. CAFs affect the proliferation and treatment response of head and neck cancer spheroids during co-culturing in a unique in vitro model. *Cancer Cell Int*, 20, n. 1, p. 599, Dec 22 2020.

MANTOVANI, A.; SOZZANI, S.; LOCATI, M.; ALLAVENA, P. *et al.* Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol*, 23, n. 11, p. 549-555, Nov 2002.

MATTE, B. F.; KUMAR, A.; PLACONE, J. K.; ZANELLA, V. G. *et al.* Matrix stiffness mechanically conditions EMT and migratory behavior of oral squamous cell carcinoma. *J Cell Sci*, 132, n. 1, Jan 09 2019.

MENG, W.; HAO, Y.; HE, C.; LI, L. *et al.* Exosome-orchestrated hypoxic tumor microenvironment. *Mol Cancer*, 18, n. 1, p. 57, Mar 30 2019.

MITCHISON, T.; KIRSCHNER, M. Cytoskeletal dynamics and nerve growth. *Neuron*, 1, n. 9, p. 761-772, Nov 1988.

NAJAFI, M.; FARHOOD, B.; MORTEZAEI, K. Extracellular matrix (ECM) stiffness and degradation as cancer drivers. *J Cell Biochem*, 120, n. 3, p. 2782-2790, Mar 2019.

NEGLIA, J. P.; FITZSIMMONS, S. C.; MAISONNEUVE, P.; SCHÖNI, M. H. *et al.* The risk of cancer among patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis and Cancer Study Group. *N Engl J Med*, 332, n. 8, p. 494-499, Feb 23 1995.

NIGHTINGALE, K. Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) Imaging: a Review. *Curr Med Imaging Rev*, 1;7, n. 4, p. 328-339, Nov 2011.

PICKUP, M. W.; MOUW, J. K.; WEAVER, V. M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep*, 15, n. 12, p. 1243-1253, Dec 2014.

PIETRAS, K.; OSTMAN, A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res*, 316, n. 8, p. 1324-1331, May 01 2010.

QUAIL, D. F.; JOYCE, J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*, 19, n. 11, p. 1423-1437, Nov 2013.

REIG, M.; FORNER, A.; ÁVILA, M. A.; AYUSO, C. *et al.* Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Update of the consensus document of the AEEH, AEC,

SEOM, SERAM, SERVEI, and SETH. *Med Clin (Barc)*, 156, n. 9, p. 463.e461-463.e430, May 07 2021.

ROGERS, T. L.; HOLEN, I. Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates. *J Transl Med*, 9, p. 177, Oct 17 2011.

SCHUST, J.; SPERL, B.; HOLLIS, A.; MAYER, T. U. *et al.* Stattic: a small-molecule inhibitor of STAT3 activation and dimerization. *Chem Biol*, 13, n. 11, p. 1235-1242, Nov 2006.

SONG, P.; ZHAO, H.; MANDUCA, A.; URBAN, M. W.; GREENLEAF J. F.; CHEN, S.; Comb-push ultrasound shear elastography (CUSE): a novel method for two-dimensional shear elasticity imaging of soft tissues. *IEEE Trans Med Imaging*, 31, n. 9, p 1821-32, Sep 2012.

SORENSEN, H. T.; FRIIS, S.; OLSEN, J. H.; THULSTRUP, A. M. *et al.* Risk of liver and other types of cancer in patients with cirrhosis: a nationwide cohort study in Denmark. *Hepatology*, 28, n. 4, p. 921-925, Oct 1998.

SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71, n. 3, p. 209-249, May 2021.

SWIFT, J.; IVANOVSKA, I. L.; BUXBOIM, A.; HARADA, T. *et al.* Nuclear lamin-A scales with tissue stiffness and enhances matrix-directed differentiation. *Science*, 341, n. 6149, p. 1240104, Aug 30 2013.

THEOCHARIS, A. D.; SKANDALIS, S. S.; GIALELI, C.; KARAMANOS, N. K. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev*, 97, p. 4-27, Feb 01 2016.

URBANSKI, L. M.; LECLAIR, N.; ANCZUKÓW, O. Alternative-splicing defects in cancer: Splicing regulators and their downstream targets, guiding the way to novel cancer therapeutics. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 9, n. 4, p. e1476, Jul 2018.

VAN HELVERT, S.; STORM, C.; FRIEDL, P. Mechanoreciprocity in cell migration. *Nat Cell Biol*, 20, n. 1, p. 8-20, Jan 2018.

VENKATESH, S. K.; YIN, M.; EHMAN, R. L. Magnetic resonance elastography of liver: technique, analysis, and clinical applications. *J Magn Reson Imaging*, 37, n. 3, p. 544-55, Mar 2013.

VOGELSTEIN, B.; PAPADOPOULOS, N.; VELCULESCU, V. E.; ZHOU, S. *et al.* Cancer genome landscapes. *Science*, 339, n. 6127, p. 1546-1558, Mar 29 2013.

WEINSTEIN, A. M.; STORKUS, W. J. Therapeutic Lymphoid Organogenesis in the Tumor Microenvironment. *Adv Cancer Res*, 128, p. 197-233, 2015.

WILD, C.P.; WEIDERPASS, E.; STEWART B.W. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020.

WOLF, K.; TE LINDERT, M.; KRAUSE, M.; ALEXANDER, S. *et al.* Physical limits of cell migration: control by ECM space and nuclear deformation and tuning by proteolysis and traction force. *J Cell Biol*, 201, n. 7, p. 1069-1084, Jun 24 2013.

XU, S.; XU, H.; WANG, W.; LI, S. *et al.* The role of collagen in cancer: from bench to bedside. *J Transl Med*, 17, n. 1, p. 309, Sep 14 2019.

ZIOUPOS, P.; CURREY, J. D. Changes in the stiffness, strength, and toughness of human cortical bone with age. *Bone*, 22, n. 1, p. 57-66, Jan 1998.