



Universidade Federal de Pernambuco  
Centro de Biociências

KARINA MAYUMI TANI BEZERRA DE MELO

**EXPLORANDO O POTENCIAL DO SILENCIAMENTO DE  
RECEPTORES PARA MODULAÇÃO DO MICROAMBIENTE  
TUMORAL:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Recife  
2024



KARINA MAYUMI TANI BEZERRA DE MELO

**EXPLORANDO O POTENCIAL DO SILENCIAMENTO DE  
RECEPTORES PARA A MODULAÇÃO DO  
MICROAMBIENTE TUMORAL:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como pré-requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Dr. Antonio Carlos de Freitas

Co-Orientadora: Ingrid Andrêssa de Moura

Recife  
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Melo, Karina Mayumi Tani Bezerra de.  
EXPLORANDO O POTENCIAL DO SILENCIAMENTO DE  
RECEPTORES PARA MODULAÇÃO DO MICROAMBIENTE TUMORAL:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA / Karina Mayumi Tani Bezerra de Melo. -  
Recife, 2024.

48p : il., tab.

Orientador(a): Antonio Carlos de Freitas

Coorientador(a): Ingrid Andrêssa de Moura

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2024.

Inclui referências, apêndices.

1. Imunomodulação. 2. RNA de intereferência. 3. CRISPR. 4.  
Carcinogênese. 5. Terapia. I. Freitas, Antonio Carlos de . (Orientação). II.  
Moura, Ingrid Andrêssa de . (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)



KARINA MAYUMI TANI BEZERRA DE MELO

**EXPLORANDO O POTENCIAL DO SILENCIAMENTO DE  
RECEPTORES PARA A MODULAÇÃO DO MICROAMBIENTE  
TUMORAL:  
UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Graduação  
em Biomedicina da Universidade  
Federal de Pernambuco, como  
pré-requisito à obtenção do título de  
Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 31/07/2024

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos de Freitas  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Dra. Bianca de França São Marcos  
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

---

Me. Julliano Matheus de Lima Maux  
Universidade Federal de Pernambuco UFPE



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu orientador, Dr. Antonio Carlos, por ter acreditado no meu potencial e me permitir fazer parte do seu laboratório (LEMTE) onde pude adquirir diversos conhecimentos e várias oportunidades.

Obrigada também a minha co-orientadora, Ingrid Andrêssa, por me acompanhar e me instruir em diversos momentos.

Aos integrantes do LEMTE, seus conhecimentos e companhia foram importantes para a minha formação.

Aos amigos que fiz durante a minha graduação, obrigada por todos os momentos de diversão e surtos.

E, obrigada a minha família, sem o apoio e motivação de vocês não estaria onde cheguei.



“Tudo é possível.  
Até mesmo o impossível.”  
(Mary Poppins)



MELO, Karina Mayumi Tani Bezerra de. **Explorando o Potencial do Silenciamento de Receptores para Modulação do Microambiente Tumoral: Uma Revisão Bibliográfica.** 2024. 48. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## RESUMO

O câncer é considerado um problema de saúde pública devido a sua alta taxa de incidência e mortalidade. É uma doença heterogênea, cuja os tratamentos convencionais não têm uma alta taxa de cura, visto que muitas vezes ocorre a resistência aos fármacos utilizados. Essa resistência vem da diversa composição do microambiente tumoral, que apresenta componentes celulares, extracelulares e físico-químicos. O microambiente é responsável pela progressão tumoral, metástase e resistência, apresentando um papel importante na carcinogênese. Devido a dificuldade de tratamento, novas estratégias, para modular a expressão de células que são importantes na carcinogênese, dentre elas o silenciamento gênico, estão sendo pesquisadas para poder contornar esse problema. No geral, o silenciamento se baseia na diminuição da expressão de um gene, que leva a diminuição de uma proteína específica, como por exemplo, dos receptores que são importantes para a sinalização e adesão. Desse modo, o objetivo desta revisão é investigar como o silenciamento dos receptores pode influenciar na modulação do microambiente tumoral e ajudar no tratamento de câncer. Assim, foi feita uma revisão bibliográfica nos bancos de dados PubMed, Embase e Periódico Capes, de acordo como os seguintes critérios: artigos em inglês, entre os anos de 2019 e 2024, depois os artigos foram filtrados seguindo o diagrama de fluxo de Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemática e Meta-análises (PRISMA). A partir da pesquisa, foi observado que o silenciamento de receptores pode afetar diferentes mecanismos que promovem a carcinogênese, como por exemplo, a angiogênese, a modulação da resposta imune e a inflamação. Além disso, foi visto que o silenciamento juntamente com outras terapias, como por exemplo, terapias de células adotivas e terapias convencionais, pode melhorar o prognóstico do paciente. Desse modo, o silenciamento de receptores, seja de forma isolada ou em conjunto com outras terapias, se apresenta como uma alternativa para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, ajudando a combater o crescimento tumoral, além de poder aumentar a eficácia de terapias já existentes.

**Palavras-chave:** Imunomodulação; RNA de interferência; CRISPR; Carcinogênese; Terapia.



MELO, Karina Mayumi Tani Bezerra de. **Explorando o Potencial do Silenciamento de Receptores para Modulação do Microambiente Tumoral: Uma Revisão Bibliográfica.** 2024. 48. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2024.

## ABSTRACT

Cancer is considered a global health problem due to its high incidence and mortality rates. It is a heterogeneous disease whose conventional treatments do not have a high cure rate, as resistance to the drugs used often occurs. This resistance comes from the diverse composition of the tumor microenvironment, which has cellular, extracellular and physicochemical components. The microenvironment is responsible for tumor progression, metastasis and resistance, and plays an important role in carcinogenesis. Due to the difficulty of treatment, new strategies to modulate the expression of cells that are important in carcinogenesis, including gene silencing, are being researched in order to get around this problem. In general, silencing is based on decreasing the expression of a gene, which leads to a decrease in a specific protein, such as receptors that are important for signaling and adhesion. Thus, the aim of this review is to investigate how receptor silencing can influence the modulation of the tumor microenvironment and help in the treatment of cancer. Thus, a bibliographic review was carried out in the PubMed, Embase and Periódico Capes databases, according to the following criteria: articles in English, between the years 2019 and 2024, then the articles were filtered following the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) flow chart. From the research, it was observed that receptor silencing can affect different mechanisms that promote carcinogenesis, such as angiogenesis, modulation of the immune response and inflammation. In addition, it has been seen that silencing together with other therapies, such as adoptive cell therapies and conventional therapies, can improve the patient's prognosis. In this way, receptor silencing, either in isolation or in conjunction with another therapy, presents itself as an alternative for the development of new therapeutic strategies, helping to combat tumor growth, as well as being able to increase the effectiveness of existing therapies.

**Key words:** Immunomodulation; Interference RNA; CRISPR; Carcinogenesis; Therapy.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Componentes do Microambiente Tumoral .....	15
<b>Figura 2</b> – Esquema do Silenciamento do shRNA e siRNA.....	23
<b>Figura 3</b> – Esquema da deleção de gene a partir do CRISPR-Cas9.....	24
<b>Figura 4</b> – Diagrama de fluxo PRISMA adaptado para a triagem e seleção dos estudos.....	26



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Principais Receptores do Microambiente e Seus Papéis... ..	20
<b>Tabela 2</b> – Receptores de Citocinas e Suas Funções Pró-Tumorais... ..	31
<b>Tabela 3</b> – Estudos que abordam as aplicações clínicas e terapêuticas do silenciamento de receptores... ..	32



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A2aR	Receptor de Adenosina 2
APCs	Células Apresentadoras de Antígenos
ATP	Trifosfato de Adenosina
BRAFi	Inibidor de BRAF
CAFs	Fibroblastos Associados ao Câncer
CAR	Receptor Quimérico de Antígeno
CCR1	Receptor de Quimiocina C-C tipo 1
CCR5	Receptor de Quimiocina C-C tipo 5
CRISPR	Conjunto de Repetições Palindrômicas Regularmente Espaçadas
CXCR4	Receptor de Quimiocina C-X-C tipo 4
DAMPs	Padrões Moleculares Associados ao Dano
DCs	Células Dendríticas
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECs	Células Endoteliais
EGF	Fator de Crescimento Endotelial
EGFR	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico
EphA1	Receptor 1 da efrina tipo A
EphA2	Receptor 1 da efrina tipo A
GPCR	Receptores Acoplados à Proteína G
HIF	Fator Induzido por Hipóxia
HPV	Papilomavírus Humano
HPV-HR	Papilomavírus Humano de Alto Risco
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
ILR	Receptor de Interleucina
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MONs	Nanopartículas Organossilicas de Mesoporos
mRNA	RNA mensageiro



NgBR	Receptor Nogo-B
NK	Células <i>Natural Killers</i>
NPs	Nanopartículas
PD-1	Receptor de Morte Celular Programada
PD-L1	Ligante Do Receptor de Morte Celular Programada
PPR	Receptor Reconhecedor de Padrões
PRISMA	Diagrama de fluxo de Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-Análise (PRISMA)
PTGS	Silenciamento Pós-Transcricional
PTX	Paclitaxel
RISC	Complexo de Silenciamento Induzido por RNA
RNA	Ácido Ribonucleico
RNAi	RNA de Interferência
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RTK	Receptor Tirosina Quinase
sgRNA	RNA guia
shRNA	RNA de gancho curto
siRNA	Pequeno RNA de interferência
SORT-1	Receptor Sortilina
SRA	Receptor <i>scavenger A</i>
TAMs	Macrófagos Associados ao Tumor
TANs	Neutrófilos Associados ao Tumor
TECs	Células Endoteliais Tumorais
TGS	Silenciamento Transcricional
TLR	Receptor Toll-Like
TLR4	Receptor Toll-Like 4
TME	Microambiente Tumoral
TNF	Fator de Crescimento Tumoral
VEGFR	Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular



<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>15</b>
2.1	MICROAMBIENTE TUMORAL.....	15
2.1.1	Componentes Celulares.....	15
2.1.2	Componentes Extracelulares.....	17
2.1.3	Componentes Físico-Químicos.....	19
2.2	RECEPTORES DO MICROAMBIENTE TUMORAL.....	19
2.2.1	Principais Receptores do Microambiente Tumoral e Seus Papéis... ..	19
2.3	ESTRATÉGIAS DE SILENCIAMENTO.....	22
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
3.1	OBJETIVO GERAL.....	25
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>27</b>
5.1	IMPACTO DO SILENCIAMENTO DE RECEPTORES NO MICROAMBIENTE TUMORAL.....	27
5.1.1	Modulação da Resposta Imune.....	27
5.1.2	Inibição da Angiogênese.....	28
5.1.3	Modulação da Inflamação.....	30
5.2	APLICAÇÕES CLÍNICAS E TERAPÊUTICAS.....	31
5.3	ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS RELEVANTES .....	35
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo e, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), representa um problema de saúde pública complexo (Câncer (Brasil), 2011). Apesar dos avanços nos tratamentos, muitos pacientes ainda enfrentam recidiva tumoral e resistência aos medicamentos convencionais, devido à natureza heterogênea da doença (Baghy *et al.*, 2023). Essa heterogeneidade está intimamente ligada à influência do microambiente tumoral, que desempenha um papel crucial na progressão e resistência do câncer.

O microambiente tumoral (TME) é composto por uma variedade de células, matriz extracelular e fatores físico-químicos (Anderson; Simon, 2020; Wei *et al.*, 2020). A interação entre células tumorais, estromais e células imune leva a modulação do microambiente através de sinais para a formação de novos vasos, crescimento celular e inibição da apoptose, além de processo inflamatórios e evasão do sistema imune (Babar *et al.*, 2023). Esses fatores afetam significativamente a eficácia dos tratamentos convencionais, como quimioterapia e radioterapia, e abrem portas para o desenvolvimento de novos tratamentos, especialmente a imunoterapia, que visa modular o microambiente tumoral para superar a resistência e melhorar os resultados terapêuticos (Debela *et al.*, 2021; Xiao; Yu, 2021). Adicionalmente, a imunoterapia é mais favorável em comparação com as terapias convencionais, pois as células tumorais têm uma maior suscetibilidade de adquirir resistência a fármacos através da sua instabilidade genética (Xiao; Yu, 2021).

Nesse âmbito, a terapia gênica representa uma promissora estratégia terapêutica, complementando e potencialmente superando as limitações das terapias convencionais (Lam *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2020). O silenciamento gênico, em particular, visa interferir na capacidade das células tumorais de crescer e sobreviver, além de modular o microambiente tumoral. Adicionalmente, se baseia em duas abordagens principais: o silenciamento transcricional (TGS) e o silenciamento pós-transcricional (PTGS). O TGS impede a transcrição de genes ao bloquear a região promotora, resultando em alterações epigenéticas, como metilação e o remodelamento da cromatina. Essas alterações podem ser transmitidas para as células filhas durante a divisão celular, mas o silenciamento não se dissemina por todo organismo (Ashfaq *et al.*, 2020; Weinberg; Morris, 2016). Por outro lado, o PTGS ocorre no citoplasma da célula e visa a degradação de RNA mensageiro

(mRNA) específico, resultando em um silenciamento temporário e não hereditário (El-Sappah *et al.*, 2021). Dessa forma, oferece a vantagem de um controle mais direcionado da expressão gênica (Ashfaq *et al.*, 2020).

O silenciamento de genes que codificam receptores de proliferação tumoral que estão relacionados à polarização de células imunes pró-tumorais emerge como uma estratégia para o tratamento do câncer (Tong *et al.*, 2023). Ao reduzir a expressão de receptores que promovem a proliferação das células tumorais, é possível limitar o crescimento do tumor. Além disso, o silenciamento de genes que influenciam a polarização de células imunes para um estado pró-tumoral pode reverter o ambiente imunossupressor, aumentando a capacidade do sistema imunológico de combater o câncer (Zhang *et al.*, 2023). Esta abordagem não só interfere diretamente na capacidade das células tumorais de crescer e sobreviver, mas também altera o microambiente tumoral, tornando-o menos favorável ao desenvolvimento e à resistência tumoral (Pernot; Evrard; Khatib, 2022).

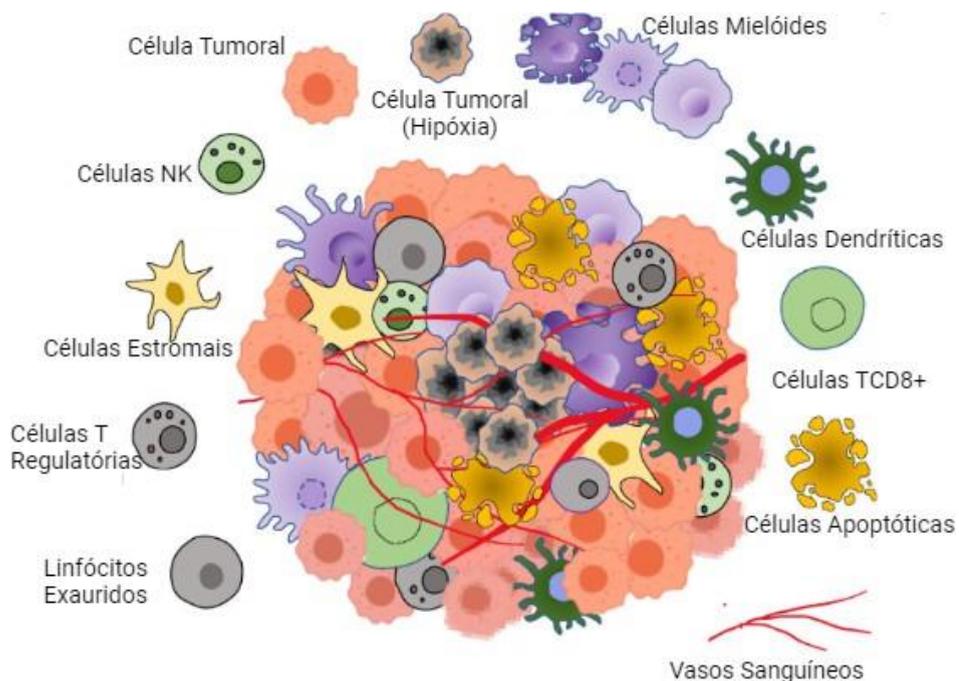
Dessa forma, o objetivo desta revisão é investigar como o silenciamento de receptores pode influenciar a modulação do microambiente tumoral e contribuir para o tratamento do câncer. Serão discutidos o impacto dos receptores no microambiente tumoral na modulação da resposta imune, nos processos inflamatórios e na angiogênese. A revisão também abordará as aplicações clínicas e terapêuticas do silenciamento desses receptores, além de abordar ensaios clínicos e pré-clínicos, destacando suas metodologias e resultados, contribuindo assim para a compreensão e avanço das terapias contra o câncer.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MICROAMBIENTE TUMORAL

O microambiente tumoral é composto por células tumorais e, também, células estromais como fibroblastos, células imunológicas e endoteliais, e componentes não celulares como a matriz extracelular e vesículas extracelulares (Figura 1) (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023; Wei *et al.*, 2020). A interação desses componentes com as células tumorais através da liberação de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas, contribuem para a progressão tumoral a partir da formação de um ambiente favorável para o câncer.

Figura 1. Componentes do microambiente tumoral.



Fonte: Traduzido e adaptado de Allemailen *et al.*, 2023

#### 2.1.1 Componentes Celulares

Os fibroblastos associados ao câncer (CAFs), além de serem encontrados em grande quantidade no TME, são considerados um dos componentes mais importantes (Wei *et al.*, 2020). No geral, os CAFs se originam de fibroblastos a partir

da secreção de citocinas e fatores de crescimento, mas podem se originar de outras células como as endoteliais, epiteliais e mesenquimais (Baghy *et al.*, 2023; Mroweh *et al.*, 2020). Devido a sua heterogeneidade e plasticidade, podem ter tanto um papel na promoção do tumor, quanto na sua supressão, sendo que na sua maioria têm um papel promotor (Baghy *et al.*, 2023; Wei *et al.*, 2020). Eles estimulam a progressão tumoral a partir da liberação de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que vão impactar nos processos de metástase, angiogênese, modulação da matriz extracelular e imunossupressão (Anderson; Simon, 2020; Wei *et al.*, 2020). Além disso, sua presença é associada com um pior prognóstico em vários tipos de cânceres, como no câncer colorretal (Anderson; Simon, 2020).

As células endoteliais (ECs) vão formar o endotélio vascular que vai separar o sangue dos tecidos, além de fornecer nutrientes, oxigênio e carregar células do sistema imune (Anderson; Simon, 2020). Na hipóxia, as células endoteliais são estimuladas a formar novos vasos a partir da secreção do fator induzido por hipóxia (HIF) (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023). É a partir da formação dos novos vasos que as células cancerígenas conseguem atingir outros tecidos, estimulando a migração e, conseqüentemente, a metástase (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023).

Outras células presentes no TME que têm um papel importante na progressão tumoral são as células do sistema imunológico. Macrófagos associados ao tumor (TAM) podem ter um papel pró-inflamatório, sendo classificados como macrófagos M1, ou um papel imunossupressor, os macrófagos M2, sendo esse último o mais prevalente (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023). A presença de macrófagos M2 é um indicativo de pior prognóstico em tumores sólidos, como câncer de ovário e gástrico, por exemplo (Wang, Huogang *et al.*, 2021). Esses macrófagos têm um papel na remodelação do tecido, angiogênese, além do seu papel imunossupressor através da secreção de substâncias imunossupressoras (Baghy *et al.*, 2023).

Assim como os macrófagos, neutrófilos também, quando associados ao tumor (TAN) podem ter um papel antitumoral (N1) ou pró-tumoral (N2) (Wu; Saxena; Singh, 2020). Um dos papéis dos neutrófilos é atrair as espécies reativas de oxigênio (ROS) que vão danificar o tecido, gerando uma inflamação crônica (Xiong; Dong; Cheng, 2021). Além disso, neutrófilos também secretam citocinas e quimiocinas que vão ter um fenótipo pró-tumoral, como a secreção do fator de crescimento tumoral (TGF- $\beta$ ), que consegue reeducar as outras células imunes para terem um perfil pró-tumoral (Wu *et al.*, 2019). Como por exemplo, o TGF- $\beta$  consegue polarizar os

macrófagos para um perfil M2 (Wu *et al.*, 2019).

As células dendríticas (DCs) são consideradas células apresentadoras de antígenos (APCs), ou seja, elas vão apresentar os antígenos para as células T, incluindo os antígenos tumorais (Ma *et al.*, 2013). Elas podem ter dois papéis no tumor: anti-tumoral e pró-tumoral, dependendo da sinalização do microambiente. Em condições fisiológicas, as DCs são estimuladas a produzir fatores inflamatórios para destruir o tumor, porém a liberação de mediadores pró-tumorais pode estimular as DCs a ignorar o tumor e prevenir a resposta imune (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023; Zhao *et al.*, 2021).

Ao interagir com as DCs, as células T vão sofrer o processo de maturação e ativação, com o objetivo de eliminar as células cancerígenas (Ahmed *et al.*, 2023). Podem se dividir em duas populações, as células TCD4+ que vão regular a resposta imune, enquanto as células TCD8+ reconhecem e matam as células tumorais (Jin *et al.*, 2023). Através da secreção de células imunossupressoras e de citocinas no TME, as células T podem ter sua funcionalidade afetada (Zhang *et al.*, 2020). Essa interação leva a diferenciação das células T para células T exauridas, que apresentam uma superexpressão de receptores negativos (Jiang; Li; Zhu, 2015). Essa exaustão também leva a diminuição da proliferação e da produção de citocinas anti-tumorais, favorecendo a progressão do câncer (Guan *et al.*, 2023).

### 2.1.2 Componentes Extracelulares

A matriz extracelular é composta por colágeno, fibronectina, proteoglicanos e outras glicoproteínas, e cada um desses componentes se comunicam através de receptores de adesão (Wei *et al.*, 2020). O seu principal papel é fornecer apoio estrutural para o tecido e nutrientes para as células ao seu redor, porém, além disso contribui para a carcinogênese ajudando no seu metabolismo, sobrevivência e invasão (Ribeiro Franco *et al.*, 2020; Wei *et al.*, 2020). A remodelação da sua estrutura através de mudanças físico-químicas afeta vários processos de sinalizações que vão favorecer a carcinogênese (Winkler *et al.*, 2020)

O colágeno é o principal constituinte da matriz e, fisiologicamente, tem o papel no desenvolvimento do tecido, ajudando no suporte estrutural, adesão e migração de células (Nallanthighal; Heiserman; Cheon, 2019). Durante o desenvolvimento do câncer o colágeno sofre diversas alterações que vão influenciar os outros

componentes à sua volta (Huang *et al.*, 2021). O principal tipo de colágeno presente é o colágeno tipo I, estudos mostram um aumento na sua quantidade no processo carcinogênico, além de ser uma das causas que levam a ineficácia dos medicamentos (Babar *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2019). Essa ineficácia acontece a partir da interação do colágeno com receptores do domínio *discoidin* (DDR) alterando diversas vias de sinalização (Xu *et al.*, 2019)

Dentre as glicoproteínas, a fibronectina é produzida pelos fibroblastos e macrófagos, além das células tumorais (Baghy *et al.*, 2023). Ela tem um papel na interação entre a matriz e as células formando uma rede de fibras que está envolvida na diferenciação celular, migração e adesão (Dzobo; Dandara, 2023). Os proteoglicanos se encontram em diferentes localizações da matriz, podem estar envolvidos em diferentes tipos de processos fisiológicos e patológicos, além de serem capazes de se ligar a citocinas e fatores de crescimento (Baghy *et al.*, 2023; Dituri *et al.*, 2022). Já a laminina é um importante constituinte da membrana basal, juntamente com o colágeno, e participa do processo de vascularização (Huang *et al.*, 2021).

Além desses componentes, a matriz extracelular é composta por enzimas, as proteases. Essas enzimas têm um papel importante na migração celular e na invasão, já que participam da destruição da membrana basal e da matriz (Baghy *et al.*, 2023). Dentre essas enzimas, as metaloproteinases de matriz (MMPs) são as mais estudadas, elas participam do processo de remodelação da matriz, ajudando na homeostase (Mustafa; Koran; AlOmair, 2022). A degradação da matriz, juntamente com a exposição aos sítios dos receptores, que favorece a interação entre os componentes e a matriz, e a liberação de moléculas ativas, contribuem para a metástase (Mustafa; Koran; AlOmair, 2022).

As vesículas extracelulares ou exossomas são importantes na comunicação entre as células tumorais e as estromais, visto que carregam informações biológicas no seu interior que participam da iniciação e progressão do câncer (Wei *et al.*, 2020). Dentre as informações biológicas que são carregadas no seu interior estão: proteínas, lipídeos, citocinas, fatores de crescimento, micro-RNAs etc (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023; Wei *et al.*, 2020). É através desses conteúdos que ocorre a angiogênese, metástase e migração que estimulam a carcinogênese (Dzobo; Senthebane; Dandara, 2023).

### 2.1.3 Componentes Físicos-Químicos

Além dos componentes já citados, existe também a hipóxia, que acontece por causa de um rápido crescimento tumoral que ultrapassa o suprimento de oxigênio disponível (Emami Nejad *et al.*, 2021). Em resposta a falta de oxigênio, o fator induzido por hipóxia (HIF) é produzido, e ele estimula a secreção de fatores de crescimento, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e o fator de crescimento endotelial (EGF), além de enzimas necessárias para a glicólise (Emami Nejad *et al.*, 2021). É através do VEGF que ocorre o estímulo da angiogênese, onde as ECs são recrutadas, adquirindo seu fenótipo tumoral (TECs) e levando a produção vasos anormais (Li; Zhao; Li, 2021). Além disso, a hipóxia ajuda na imunotolerância e na evasão do sistema imune através da perda das suas funções e incapacidade de chegar ao local do tumor (Wang, Bin *et al.*, 2021). Por exemplo, a hipóxia consegue promover a morte das células T, além de diminuir a sua diferenciação e proliferação das mesmas e das DCs através da liberação de citocinas como a IL-6 (Chen *et al.*, 2022).

Devido a baixa taxa de oxigênio, os tumores trocam a fosforilação oxidativa pela glicólise, conseqüentemente, levando a produção de metabólitos ácidos e diminuindo o pH (Li; Zhao; Li, 2021). A mudança no pH no microambiente, também tem impacto nas células do sistema imune. Estudos mostram que um pH ácido consegue suprimir as células T efetoras, além de diminuir a produção de citocinas (Hosonuma; Yoshimura, 2023). Já nos macrófagos, a acidez promove a polarização para macrófagos M2 tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Hosonuma; Yoshimura, 2023).

## 2.2 RECEPTORES DO MICROAMBIENTE TUMORAL

### 2.2.1 Principais Receptores do Microambiente Tumoral e Seus Papéis

Tabela 1: Principais Receptores do Microambiente e Seus Papéis

Receptores		Papel no Microambiente	Referências
Receptor Tirosina Quinase (RTK)	VEGFR-1	Participa da hematopoiese, Ativação das MMPs e Migração de células	(Mabeta; Steenkamp, 2022)
	VEGFR-2	Participa da vasculogênese e Angiogênese	(Mabeta; Steenkamp, 2022)
	VEGFR-3	Participa da linfangiogênese	(Kannan; Rutkowski, 2024)
	EGFR	Tem diversos papéis, atuando na proliferação, angiogênese e metástase	(Liu, Lihui <i>et al.</i> , 2021)
Receptores Acoplados à Proteína G (GPCRs)	Receptor de Quimiocinas	Tem papel na quimiotaxia, além de agir na inflamação e na homeostase	(Bennett; Fox; Signoret, 2011)
Integrinas		Importante na adesão celular e na sinalização entre as células e a ECM	(Longmate; DiPersio, 2017)
Receptor reconhecedor de padrão (PPR)	Receptor <i>Toll-like</i> (TLR)	Ativação da resposta imune	(Chen; Zhang; Fu, 2022)

Fonte: Autora (2024)

Os receptores de tirosina quinase (RTK) são importantes para a tradução de sinais de vários processos, como o crescimento celular, por exemplo (Du; Lovly, 2018). A expressão aumentada dos RTKs, como por exemplo, o receptor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) e o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), estão presentes em diferentes tipos de cânceres (Butti *et al.*, 2018). De modo geral, a sua estrutura apresenta um domínio extracelular, um domínio transmembrana e outro intracelular, sendo seguido pelo domínio da tirosina quinase e uma cauda terminal (A. Karpov *et al.*, 2015). A ligação do receptor como o seu ligante na região extracelular, promove o aumento da atividade do receptor tirosina quinase e a auto fosforilação do resíduo da tirosina, ativando uma cascata

de sinalização (Butti *et al.*, 2018; Maruyama, 2014). No câncer, os RTKs tem uma ativação aberrante, seja pela sua super expressão, mutação, translocação cromossomal ou ativação autócrina (Du; Lovly, 2018).

O VEGFR é um dos receptores mais estudado, e juntamente com o seu ligante VEGF tem um papel importante no processo angiogênico e, conseqüentemente, na vascularização tumoral (Tabela 1) (Shibuya, 2011). Esse receptor pode ser diferenciado em VEGFR-1, VEGFR-2 e VEGFR-3, sendo o VEGFR-1 essencial para a hematopoese, ativação das MMPs e migração das células imunológicas para o microambiente tumoral, já o VEGFR-2 tem um papel na vasculogênese e angiogênese, enquanto o VEGFR-3 está associado, principalmente, com a linfangiogênese (Kannan; Rutkowski, 2024; Mabeta; Steenkamp, 2022).

O EGFR, também é um receptor importante para a sinalização celular e a sua super expressão ou mutação contribui para a carcinogênese (Tabela 1) (Liu, Lihui *et al.*, 2021). A sua superexpressão pode levar a ativação de diversas vias de sinalização, que vão favorecer a proliferação celular, metástase e angiogênese (Liu, Lihui *et al.*, 2021). A mutação desse receptor está associada com um aumento do perfil imunossupressor do TME, através do aumento do receptor de morte celular programada (PD-1), um regulador negativo das células T (Madeddu *et al.*, 2022).

Receptores acoplados à proteína G (GPCR) são receptores que participam dos processos de comunicação com moléculas extracelulares e transdução de sinais, além de outros processos fisiológicos e patológicos (Tabela 1) (Nishiwada *et al.*, 2023). Além disso, são alvos de mediadores inflamatórios, promovendo a conexão entre a inflamação crônica e o câncer (Mollica Poeta *et al.*, 2019). Esse tipo de receptor está envolvido com processos de regulação celular para o crescimento tumoral, e estudos mostram que ele se encontra altamente expresso em diferentes tipos de tumores (Lappano; Maggiolini, 2012). A sua estrutura apresenta um domínio extracelular, uma região transmembrana com 7 *loops*, uma região intracelular e uma cauda terminal (Yu *et al.*, 2018). A ativação deste receptor pode acontecer por meio de vários ligantes, como quimiocinas, neurotransmissores, hormônios e peptídeos (Dorsam; Gutkind, 2007).

Fazem parte da família dos GPCRs, os receptores de quimiocinas, por exemplo. Esses receptores possuem várias funções biológicas, podendo ser classificados como receptores constitutivos ou inflamatórios, dependendo do seu

papel, seja na inflamação ou homeostase (Bennett; Fox; Signoret, 2011). As quimiocinas são conhecidas pelo seu papel na quimiotaxia, ou seja, por estimular a migração de células (Hughes; Nibbs, 2018). A ligação das quimiocinas e seus receptores estão envolvidos em vários processos cancerígenos, como, por exemplo, a angiogênese, metástase, proliferação e recrutamento de leucócitos (Mollica Poeta *et al.*, 2019).

Além desses receptores, existem os receptores de adesão, mais conhecidos como integrinas, que estão altamente expressas na matriz (Longmate; DiPersio, 2017). Esses receptores medeiam a comunicação entre células tumorais e estromais entre os outros componentes do microambiente através da sinalização intracelular e extracelular (Tabela 1) (Baghy *et al.*, 2023; Longmate; DiPersio, 2017). A sua principal função é aderir às células a matriz, favorecendo a invasão e a sobrevivência, além disso está envolvida no processo de resistência a terapias (Li *et al.*, 2021; Longmate; DiPersio, 2017). As integrinas têm a sua expressão modulada em diversos tipos de cânceres, favorecendo diversos processos relacionados ao câncer (Liu, Fangfang *et al.*, 2023).

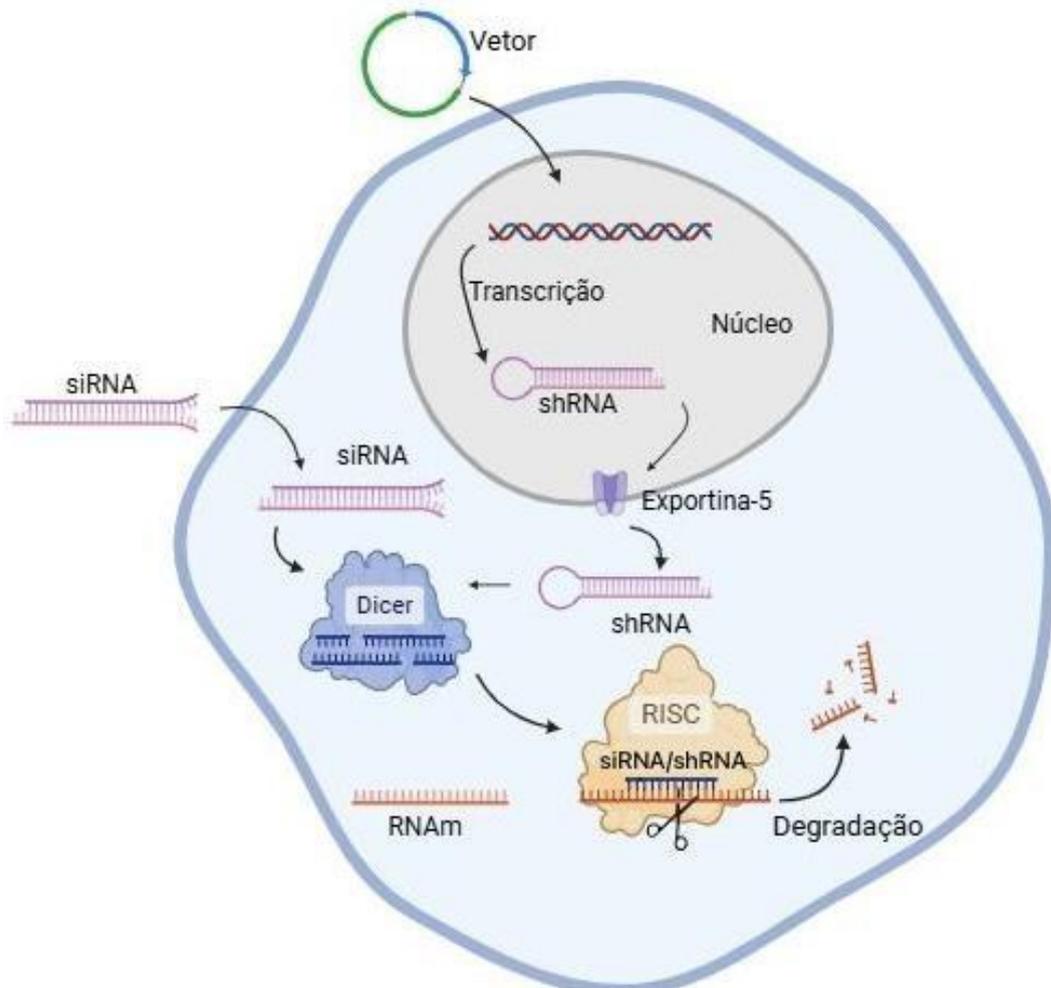
Existem também, receptores reconhecedores de padrões (PPR), como por exemplo, os receptores *Toll-like* (TLR). Esses receptores estão, principalmente, envolvidos na ativação da resposta imune inata, através da ativação das APCs (Tabela 1) (Chen; Zhang; Fu, 2022). Essa ativação também estimula a secreção de mediadores inflamatórios, como as citocinas, que vão interagir com as células T para modular uma resposta adaptativa, gerando imunidade (Chen; Zhang; Fu, 2022). Esse receptor está envolvido tanto nos processos pró-tumorais, como na angiogênese, metástase e evasão do sistema imune, quanto nos processos anti-tumorais, através da indução da apoptose, por exemplo (Mokhtari *et al.*, 2021).

### 2.3 ESTRATÉGIAS DE SILENCIAMENTO

O silenciamento por meio do RNA de interferência (RNAi) é considerado um silenciamento pós-transcricional, já que sua técnica se baseia na degradação do RNAm (Mroweh *et al.*, 2020). Os principais tipos de RNAi abordados nos resultados são: o *small interfering RNA* (siRNA) e o *short hairpin RNA* (shRNA), ambas têm o mesmo mecanismo de silenciamento, porém o que as diferencia é a origem. O siRNA tem origem endógena, a partir de um *loci* genômico, e o shRNA é originado a

partir de sequências produzidas de RNA na célula a partir de um vetor de DNA, como lentevírus, adenovírus e plasmídeos (Mroweh *et al.*, 2020). O shRNA, para ser gerado, precisa ser inserido no núcleo para sofrer o processo de transcrição, para depois ser transportado para o citoplasma através da Exportina-5, já o siRNA age diretamente no citoplasma (Mroweh *et al.*, 2020). No citoplasma, para ocorrer o silenciamento de uma sequência específica do RNAm, o RNAi (siRNA/shRNA) precisa sofrer um processo de quebra pela enzima DICER para depois se ligar a um complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC), onde a fita guia vai se ligar a região complementar do RNAm através do RISC, levando a degradação do RNAm (Figura 2) (Bobbin; Rossi, 2016).

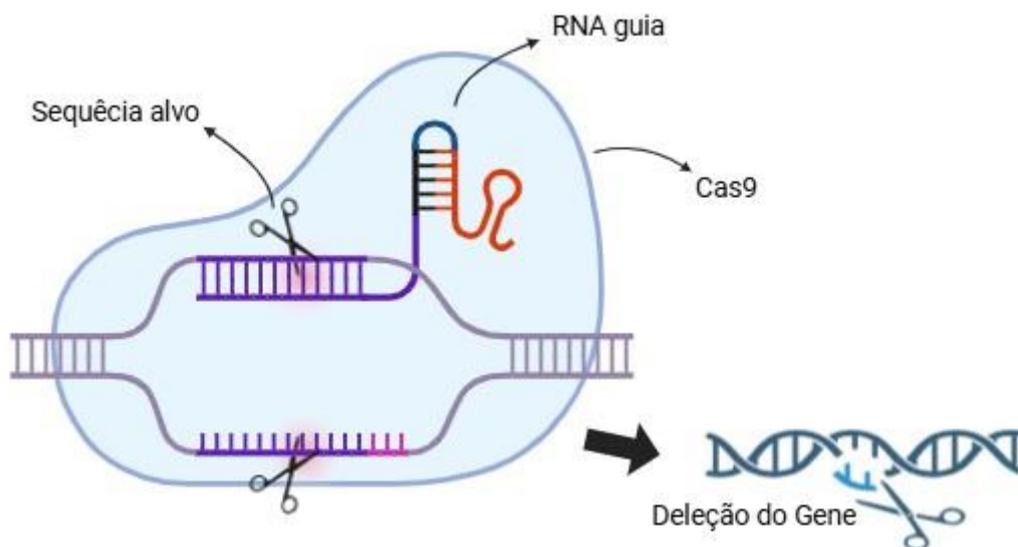
Figura 2. Esquema do Silenciamento do shRNA e siRNA



Fonte: Autora (2024)

Além do RNAi, outra técnica que pode ser utilizada para o silenciamento é o Conjunto de Repetições Palindrômicas Regularmente Espaçadas (CRISPR). O CRISPR se originou através da descoberta de pequenas sequências repetidas e espaçadas de DNA no genoma de procaríotos, onde foi visto, que esse sistema, conseguiu proteger os procaríotos de vírus e bacteriófagos (Mengstie; Wondimu, 2021; Zhang *et al.*, 2021). Existem diferentes tipos de sistema CRISPR/Cas, dentre eles, o mais estudado é o sistema CRISPR-Cas9. Esse sistema, além de apresentar a Cas9, tem um RNA guia (sgRNA), que pode ser editada para ter como alvo diferentes sequências (Fernandes *et al.*, 2021). De modo geral, a ativação da proteína Cas9 faz com que a mesma se ligue à sequência alvo para que ocorra a quebra do DNA (Figura 3) (Hillary; Ceasar, 2023).

Figura 3: Esquema da deleção de gene a partir do CRISPR-Cas9



Fonte: Autora (2024)

Vários receptores estão presentes no microambiente tumoral e estão envolvidos em diversos processos que favorecem a progressão tumoral, como por exemplo a angiogênese, modulação da resposta imune, inflamação e resistência à fármacos (Tabela 1). Desse modo, a modulação da expressão dos receptores, através das estratégias de silenciamento, no microambiente tumoral, pode apresentar uma estratégia terapêutica inovadora para cânceres.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o potencial do silenciamento de receptores para modular o microambiente tumoral e destacá-las como uma possíveis estratégias terapêuticas.

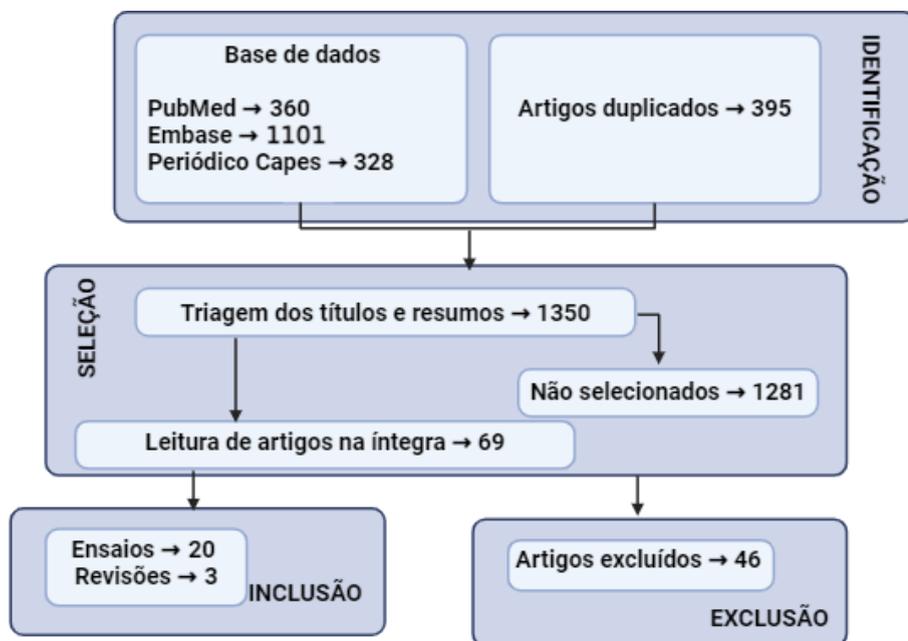
#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o impacto do silenciamento de receptores no microambiente tumoral focando nos processos inflamatórios, resposta imune e angiogênese.
- Discutir as aplicações terapêuticas do silenciamento de receptores, destacando suas aplicações em diferentes tipos de câncer.
- Analisar as estratégias de silenciamento gênico utilizadas e seu impacto no microambiente tumoral.
- Revisar e sintetizar os resultados de ensaios clínicos e pré-clínicos relevantes, descrevendo suas metodologias e resultados obtidos.

## 4 METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica e transversal por meio de publicações de artigos científicos obtidos em meios eletrônicos nas bases de dados: PubMed, Embase e Periódico Capes. As palavras-chaves utilizadas foram: “tumor microenvironment”, “silencing” e “therapy”. Os artigos identificados foram importados para a biblioteca do Zotero e os artigos elegíveis foram filtrados seguindo o diagrama de fluxo de Itens de Relatório Preferidos para Revisões Sistemáticas e Meta-análise (PRISMA) (Figura 4).

Figura 4: Diagrama de fluxo PRISMA adaptado para a triagem e seleção dos estudos



Para os critérios de inclusão foram usados artigos entre os anos de 2019 e 2024, tendo inglês como idioma, que abordassem o uso do silenciamento de receptores para a modulação do microambiente tumoral como uma estratégia terapêutica e estudos que permitam entender como esses receptores estão envolvidos na progressão tumoral a partir do seu silenciamento. Foram excluídos artigos duplicados, resumos publicados em eventos científicos, trabalhos de conclusão de curso, artigos de acesso restrito e, por fim, artigos que não abordassem o silenciamento dos receptores para a modulação do microambiente tumoral. Após a leitura e aplicação dos critérios de seleção e exclusão, 23 artigos foram utilizados para esta revisão.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 IMPACTO DO SILENCIAMENTO DE RECEPTORES NO MICROAMBIENTE TUMORAL

#### 5.1.1 Modulação da Resposta Imune

A resposta imune é uma importante defesa natural e pode ser usada como estratégia terapêutica a partir da indução de respostas antitumorais e dentre as células do sistema imune, sendo uma das células que participam desse processo o linfócito T (Waldman; Fritz; Lenardo, 2020). O linfócito T, é um efetor anti-tumoral e, apresenta vários receptores expressos na sua superfície que ajudam na sua regulação, como por exemplo, o receptor de morte celular programada (PD-1) e o receptor de adenosina 2 (A2aR), e ambas têm a função principal de suprimir a resposta da célula T. Essa imunossupressão normalmente é utilizada para evitar uma super ativação das células T que pode levar a danos no indivíduo, como por exemplo, nas doenças auto-imunes (Chen *et al.*, 2023).

O PD-1 é um regulador negativo da resposta imunológica e é expresso nas células do sistema imune, principalmente, nos linfócitos T citotóxicos (TCD8+) e no microambiente (Wang, Xiaodong *et al.*, 2020; Yi *et al.*, 2021). Em condições fisiológicas, PD-1 tem a função de controlar a super ativação das células T, levando a proteção dos tecidos a uma resposta auto-imune e ao controle da homeostasia do sistema (Sharpe; Pauken, 2018). No contexto tumoral, a sua interação com seus ligantes, como o PD-L1, que é altamente expresso nas células tumorais, leva a inibição da ativação das células T e da produção das citocinas e, pode, conseqüentemente, contribuir para a evasão tumoral (Xie *et al.*, 2021). Medicamentos que levam a inibição do PD-1 a partir de anticorpos já existem, o Keytruda e Opdivo, e são uma boa estratégia para combater o câncer, como linfoma de Hodgkin's e melanoma, apesar de existirem algumas limitações como o seu alto custo e não funcionalidade em certos tipos de tumores (Zhou *et al.*, 2021).

A adenosina é um importante intermediário na síntese do trifosfato de adenosina (ATP), é considerada intracelular quando participa dos processos metabólicos, como a geração de energia, e é considerada extracelular quando age como um inibidor da resposta imune (Ohta, 2016; Sun; Wang; Hao, 2022). Nos tumores são encontradas grandes quantidades de adenosina extracelular, indicando

que o tumor se beneficia de um ambiente imunossuprimido (Ohta, 2016). Ela modula o crescimento tumoral a partir da interação com seus receptores (A1aR, A2AaR, A2baR e A3aR) (Gessi *et al.*, 2011), Dentre eles, o A2aR, é o que se encontra altamente expresso nas células T, também participando do processo de imunossupressão (Masjedi *et al.*, 2020). Além disso, está envolvida no processo de proliferação celular e angiogênese pela secreção de VEGF e da interleucina-8 (IL-8) (Gessi *et al.*, 2011; Sek *et al.*, 2018).

Outro receptor, que não se encontra expresso nos linfócitos, mas sim nas células de origem mielóide, como DCs e macrófagos e tem um papel importante como imunossupressor das células dendríticas, é o receptor *scavenger* A (SRA) (Qian *et al.*, 2023). Esse receptor pode ser considerado um subtipo do Receptor Reconhecedor de Padrão (PPR) e se liga com os ligantes como os Padrões Moleculares Associados ao Dano (DAMPs). De modo geral, ele tem um papel na homeostase, também tem um papel importante na polarização de M2, apesar de não ter seu mecanismo esclarecido (Yu *et al.*, 2015).

Desse modo, o silenciamento desses receptores que agem como reguladores negativos das células T e das DCs, pode ser uma boa alternativa para a restauração das suas funções e, conseqüentemente, o reconhecimento e a destruição da célula tumoral. Além de evitar a progressão tumoral, pode, também, inibir outros processos, como a angiogênese e o processo inflamatório.

### 5.1.2 Inibição Da Angiogênese

Vários fatores pró-angiogênicos são liberados pelas células tumorais para manter a angiogênese e induzir a proliferação e metástase (Liu, Zhen-Ling *et al.*, 2023). É através da formação dos novos vasos sanguíneos que o tumor tem acesso a oxigênio e nutrientes que vão ajudar a garantir a sua persistência (Lugano; Ramachandran; Dimberg, 2020). É, também, a partir da parede dos novos vasos que o tumor consegue ir do seu local de origem para outro e promover a metástase (Jiang, Xianjie *et al.*, 2020). Desse modo, percebe-se que a angiogênese é um fator importante para o câncer, ajudando na proliferação tumoral.

O principal receptor envolvido no processo de angiogênese é o VEGFR, e ele apresenta diferentes tipos, sendo um deles o VEGFR-1. Esse receptor está envolvido no processo patológico da angiogênese e no recrutamento de TAMs, e a

partir da sua ativação ele promove a migração, crescimento, invasão e resistência a fármacos (Atzori *et al.*, 2020). Além disso, o VEGFR-1 está envolvido em processo de formação *de novo* de vasos, a *vasculogenic mimicry*, que é um processo independente da angiogênese e das células endoteliais, onde vasos são formados a partir de células tumorais para promover oxigênio (Atzori *et al.*, 2020; Lim *et al.*, 2020). Outro receptor, o VEGFR-3 está associado a formação de vasos linfáticos no tumor e a sua volta, além de estar superexpresso em diferentes tipos de tumores e associado a invasão, proliferação e resistência (Torres-Ruiz *et al.*, 2023). Os vasos linfáticos participam da propagação da inflamação, funcionando como uma rota para o transporte de citocinas e antígenos, por exemplo (Kannan; Rutkowski, 2024).

Além do VEGFR, outros receptores podem estar envolvidos no processo da angiogênese. O receptor Nogo-B (NgBR) também é conhecido pela sua capacidade de estimular a angiogênese, sendo expresso em vários tipos de cânceres e em células endoteliais vasculares (Xu *et al.*, 2022). É importante, também, destacar que esse receptor está envolvido com o processo de resistência de fármacos no carcinoma hepatocelular e no câncer de mama (Xu *et al.*, 2022).

O receptor sortilina (SORT-1) apresenta um papel na endocitose e na regulação do tráfego de proteínas (Charfi *et al.*, 2021). Está envolvido, principalmente, no sistema nervoso, porém também está envolvido em processos patológicos e em tecidos não-neuronais (Gao *et al.*, 2020). Ele também se encontra superexpresso em cânceres, como o de pulmão, mama e tireóide, estando envolvido em processos como invasão, metástase e na progressão tumoral (Gao *et al.*, 2020). Além de estar envolvido em todos esses processos, o estudo de Charfi *et al.*, 2021 é um dos primeiros a abordar o seu papel na *vasculogenic mimicry*.

Outro receptor, porém menos estudado, que está associado com a angiogênese é o receptor 1 da efrina tipo A (EphA1). Apesar de pouco estudado, estudos recentes mostram que a expressão de EphA1 está positivamente relacionada com a interleucina-6 (IL-6) e o VEGF (Wang, Yong-Cang *et al.*, 2020). Já o receptor EphA2, além de estar relacionado com diversos cânceres, como no câncer de mama e glioblastoma, e processos carcinogênicos, está relacionado com a angiogênese (Hattab; Bakhtiar, 2020).

Assim, o silenciamento desses receptores que estão associados com a angiogênese, pode diminuir a formação de novos vasos sanguíneos, sejam eles gerados por ECs ou pelas próprias células tumorais. E a diminuição da formação

desses vasos pode auxiliar na diminuição da invasão e metástase tumoral, bem como diminuir o fornecimento de mediadores e nutrientes importantes para a formação tumoral.

### 5.1.3 Modulação Da Inflamação

O processo inflamatório apresenta várias células envolvidas que vão regular a quimiotaxia, migração e proliferação, e pode ser dividido em dois estágios: inflamação aguda e crônica (Zhao *et al.*, 2021). A inflamação aguda contribui para a morte das células através da liberação de substâncias pró-inflamatórias, porém se essa inflamação persistir e, conseqüentemente, a liberação dessas substâncias, esses sinais vão levar a formação da inflamação crônica (Zhao *et al.*, 2021). A inflamação crônica leva a ativação de oncogenes ou a inativação de genes supressores, promovendo a proliferação e a sobrevivência (Wen *et al.*, 2022).

Os receptores *Toll-Like* (TLR) e os receptores de interleucinas (ILR) reconhecem patógenos endógenos e exógenos, sendo responsáveis pela amplificação de sinais que levam a ativação da resposta adaptativa e inata (Molgora *et al.*, 2016; Vijay, 2018). Esses receptores estão presentes nas células do sistema imune e, também nas células tumorais, podendo promover ou reduzir o crescimento tumoral (Briukhovetska *et al.*, 2021; Farooq *et al.*, 2021). Dentre os TLR, um dos mais estudados é o TLR4, tendo um papel importante no desenvolvimento neoplásico, apesar de que outros TLRs também estarem envolvidos em diferentes tipos de cânceres (Jiang, N. *et al.*, 2020; Mokhtari *et al.*, 2021). Ele está envolvido em vários processos, como por exemplo, a angiogênese, maturação e ativação de células dendríticas e infiltração de macrófagos M2 (Li *et al.*, 2017). Já dentre os ILRs, o IL-1R8 age como um regulador negativo da família IL-1R (Mariotti *et al.*, 2023). Esse receptor também está expresso nas células *natural killers* (NK) regulando a atividade anti-tumoral nos tumores sólidos, assim a sua alta expressão nessas células leva a uma inibição da sua maturação e ativação (Campesato *et al.*, 2017).

Além desses receptores, os receptores de quimiocinas, que são conhecidas pelo seu papel de quimioatraentes de linfócitos, também tem um papel importante no remodelamento da matriz extracelular, angiogênese e metástase tumoral (Stone *et al.*, 2017). É importante comentar, que um receptor de quimiocina pode ser ativado

por diferentes ligantes, podendo apresentar funções distintas: pró-tumoral ou antitumoral (Korbecki *et al.*, 2020). Dentre os resultados, foram abordados os receptores de quimiocinas 1, 4 e 5 (CCR1, CXCR4 e CCR5), e esses se encontram altamente expressos em diferentes tipos de cânceres. Esses receptores quando ativados por seu ligantes tem um papel na imunidade tumoral, favorecendo o câncer através de vários processos, como por exemplo, o recrutamento de TAMs e diferenciação das células mielóides (Tabela 2) (Ozga; Chow; Luster, 2021; Zilio *et al.*, 2022).

Tabela 2: Receptores de Citocinas e Suas Funções Pró-Tumorais

<b>Receptor</b>	<b>Ligantes</b>	<b>Efeitos Pró-Tumorais</b>
CXCR4	CXCL12	Recrutamento e diferenciação dos TAMs
CCR1	CCL3	Recrutamento e apreensão de TAMs
CCR5	CCL3, CCL4, CCL5	Recrutamento de TAMs e de CCR5+ Treg

Fonte: Adaptado de Ozga; Chow; Luster, 2021

Apesar de serem receptores importantes no processo inflamatório, eles também têm ação em diversos processos que são importantes para a carcinogênese. Desse modo, o silenciamento desses receptores pode interferir no processo inflamatório, angiogênese e metástase.

## 5.2 APLICAÇÕES CLÍNICAS E TERAPÊUTICAS

Tabela 3: Estudos que abordam as aplicações clínicas e terapêuticas do silenciamento de receptores

Receptor	Câncer a ser tratado	Resultados observados no estudo	Referência
PD-1	_____	Aumento da eficácia de imunoterapias adoptivas, como CAR-T cell e vacinas de DCs	(Hu <i>et al.</i> , 2022; Xie <i>et al.</i> , 2021)
	Leucemia e câncer de próstata	Diminuição do crescimento tumoral	(Zhou <i>et al.</i> , 2021)
A2aR	_____	Aumento da eficácia das vacinas de DCs	(Masjedi <i>et al.</i> , 2020)
	Câncer de cabeça e pescoço	Aumento da infiltração das células T no sítio tumoral	(Newton <i>et al.</i> , 2021)
VEGFR-1	Melanoma	Reversão da resistência ao fármaco BRAFi	(Atzori <i>et al.</i> , 2020)
VEGFR-3	Câncer de mama	Reversão da resistência ao fármaco Doxorubicin	(Kannan; Rutkowski, 2024)
SRA	Melanoma	Aumento da eficácia de vacinas de DCs	(Qian <i>et al.</i> , 2023)
IL-1R8	_____	Melhora nas atividade anti-tumoral das células NK	(Landolina <i>et al.</i> , 2022)
TLR4	Câncer cervical	Diminuição do processo carcinogênico	(Jiang <i>et al.</i> , 2020)
NogoBR	_____	Diminuição da carcinogênese e reversão da resistência ao fármaco Paclitaxel	(Xu <i>et al.</i> , 2022)
SORT-1	Câncer de mama triplo negativo e câncer do ovário	Observado a relação desse receptor com a <i>vasculogenic mimicry</i>	(Charfi <i>et al.</i> , 2021)
EphA1	_____	Observado a sua relação com a angiogênese a partir da secreção de VEGF e IL-6	(Wang <i>et al.</i> , 2022)

CCR1 e CCR5	_____	Observado a sua influência no processo de diferenciação das células de origem mielóide	(Zilio <i>et al.</i> , 2022)
CXCR4	Câncer esofágico de células escamosas	Observado sua relação com a carcinogênese e com o HIF	(Wu <i>et al.</i> , 2022)

Fonte: Autora (2024)

A ativação do receptor PD-1 acontece através do ligante PD-L1, gerando sinais que levam a diminuição da resposta imunológica contra as células tumorais, através da inibição das células T. Assim, o bloqueio da comunicação entre PD-1/PD-L1 tem se mostrado uma ótima alternativa terapêutica para vários tipos de cânceres (Liu, Jinhua *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2021). O silenciamento do PD-1, além de restaurar as funções das células T, como a capacidade de destruir o tumor, permite uma melhora nas migração dessas células em direção ao tumor (Hu *et al.*, 2022). Além de conseguir diminuir o crescimento tumoral, o seu silenciamento, mostra-se uma boa alternativa para aumentar a eficácia de imunoterapias adotivas, como por exemplo, terapias que utilizam o receptor quimérico de antígeno (CAR) (Tabela 3) (Hu *et al.*, 2022; Jiang *et al.*, 2023). A terapia CAR-T *cell* consiste em células T que expressam CAR, auxiliando no reconhecimento da célula tumoral (De Marco; Monzo; Ojala, 2023). Do mesmo modo, o silenciamento de A2aR, também permitiu a restauração das funções e da infiltração das células T no tumor e a quimiotaxia, em células com câncer de cabeça e pescoço (Newton *et al.*, 2021) Além do PD-1, o silenciamento do receptor A2aR, que também tem o papel de imunossupressor das células T, se mostra eficaz para aumentar a eficácia de vacinas com células dendríticas (Tabela 3) (Masjedi *et al.*, 2020).

Do mesmo modo em que houve a restauração das funções das células T, o estudo de Landolina *et al.*, 2022 aborda o silenciamento do receptor IL-1R8 para restaurar a funcionalidade das células NK. Essas células são uma parte importante da imunidade, visto que conseguem reconhecer e eliminar rapidamente as células tumorais (Zhang; Hu; Shi, 2020). O estudo mostra que o receptor IL-1R8 afeta a funcionalidade das células NK, assim, o seu silenciamento se mostra uma boa alternativa para restaurar as funções antitumorais das células (Tabela 3). Através do

silenciamento, foi visto um aumento na capacidade de migração, produção de citocinas e aumento da atividade citotóxica.

O silenciamento do receptor SRA também consegue melhorar o funcionamento das DCs ajudando a melhorar a eficácia das vacinas de chaperonas em pacientes com melanoma (Tabela 3) (Qian *et al.*, 2023). Estudos mostram que as vacinas de chaperonas são reconhecidas pelas APCs, principalmente as DCs, então o papel inibitório do SRA nas DCs pode dificultar a ação desta vacina nos pacientes. No estudo de Qian *et al.*, 2023, foi visto que o silenciamento desse receptor através do shRNA carregado por um adjuvante, a quitosana, consegue aumentar a capacidade das DCs em capturar a vacina e aumentar a resposta antitumoral.

Outro problema comum na ineficácia das terapias já existentes para determinados tipos de cânceres, é a resistência adquirida. No melanoma, por exemplo, muitos pacientes não obtêm os benefícios do fármaco ou acabam adquirindo a resistência ao medicamento, dificultando a reversão da doença (Atzori *et al.*, 2020). O inibidor de BRAF (BRAFi) é um exemplo de medicamento que tem a sua resposta inativada pela resistência adquirida, visto que ela eleva a quantidade de VEGF-A e VEGF-1, que favorece o crescimento tumoral (Atzori *et al.*, 2020). Através do silenciamento do VEGFR-1, observou-se um bloqueio desta via de sinalização, e houve uma menor resistência do fármaco as células infectadas com melanoma, assim, diminuindo o perfil invasivo, indicando a importância desse receptor e o seu silenciamento em paciente com melanoma (Tabela 3) (Atzori *et al.*, 2020). O mesmo efeito foi observado com o VEGFR-3 no câncer de mama, onde a sua alta expressão foi observada nas células resistentes ao Doxorubicin, além disso, a alta expressão desse receptor no câncer de mama favorece o processo carcinogênico (Tabela 3) (Torres-Ruiz *et al.*, 2023). Assim, o VEGFR-3, além de ser considerado um biomarcador de prognóstico para a doença, pode funcionar como um alvo a ser silenciado para a criação de uma nova estratégia terapêutica (Torres-Ruiz *et al.*, 2023).

Na maioria dos casos, pacientes com câncer cervical estão associados ao Papilomavírus humano (HPV), principalmente o de alto risco, o HPV-HR (Araldi *et al.*, 2018). Já existem vacinas para o HPV, porém com caráter profilático, ou seja, não apresentam benefícios para pacientes já infectados com o vírus que pode levar ao câncer. Jiang, N. *et al.*, 2020 estudou o efeito do TLR4 no câncer cervical, a fim de estabelecer uma terapia para pacientes com esse câncer relacionado ao HPV.

Em um estudo anterior, foi visto que esse receptor se encontra altamente expresso no câncer cervical e que ele se encontra envolvido nos processos de proliferação e resistência a apoptose, através da liberação de citocinas pró-inflamatórias (Jiang *et al.*, 2017). A partir disso, foi observado que na baixa expressão do receptor pelo seu silenciamento houve um menor crescimento tumoral em comparação *in vitro* e *in vivo* com a sua superexpressão. Assim, pode-se relacionar a sua expressão com o processo carcinogênico no câncer cervical, indicando sua possível aplicação terapêutica (Tabela 3).

Ainda em relação ao câncer cervical, Xu *et al.*, 2022 construiu um sistema com siRNA e Paclitaxel (PTX), um fármaco anticâncer, que tem como alvo células resistentes para melhorar a sensibilidade do tumor em relação à quimioterapia. O receptor alvo dessa estratégia foi o Ng-BR, que está associado com a carcinogênese e com a resistência tanto no câncer hepatocelular como no cervical. Esse sistema, denominado de “Matryoshka” é composto de: I) GE11, um polipeptídeo que tem como alvo EGFR que se encontra altamente presente em células resistentes, II) PEG, que serve como uma camada protetora que vai ajudar na circulação sanguínea e proteger o conteúdo no seu interior, III) outra camada de PEI, que ajuda no transporte o siRNA, aumentando a eficiência do seu silenciamento, IV) nanopartículas organossilicas de mesoporos (MONs) que vai servir como carreador e que vai proporcionar a liberação do fármaco de modo controlado, e V) polímeros acoplados MONs que vão ajudar na biocompatibilidade. De acordo com testes e resultados observados, o uso do siRNA que tem como alvo Ng-BR em conjunto com um fármaco anticâncer para reverter a resistência, se mostrou uma boa estratégia (Tabela 3).

### 5.3 ENSAIOS PRÉ-CLÍNICOS E CLÍNICOS RELEVANTES

A partir do conhecimento de que o PD-1 é um regulador negativo das células T, Hu *et al.*, 2022 hipotetizou que o silenciamento desse receptor nas células TCD8+ poderia ajudar a aumentar a eficácia das imunoterapias adotivas. Foi determinado se a perda de PD-1 tem influência na população TCD8+ e também da função do receptor nessas células, assim foi observado que o receptor age como um regulador negativo das células TCD8+ e que sua perda leva a uma maior atividade dessas células, bem como a regressão do tumor. Além disso, também foi avaliada a

capacidade do PD-1 em regular as quimiocinas e seus receptores nas células T, levando a alteração na quimiotaxia. Para silenciar o gene, a estratégia utilizada foi o CRISPR-Cas9 guiado por sgRNA-2. Para avaliar o efeito de PD-1 nas CAR-T cells, foi construída uma CAR-T cell que expressa shRNA para silenciar o PD-1. Onde foi visto que ocorre uma diminuição da expressão desse receptor, sem alterar a expressão da CAR nas células T.

Um estudo semelhante foi feito por Masjedi *et al.*, 2020, onde a vacina de célula dendrítica teve sua eficácia melhorada, a partir do silenciamento do receptor A2aR. Além disso, nesse estudo foi utilizado nanopartículas (NPs) de polietileno glicol quitosana-lactato como um carreador. O silenciamento do receptor foi feito a partir do siRNA, e para confirmar o aumento da eficácia das vacinas de DCs experimentos foram realizados com camundongos. Primeiramente, foi observado que houve o silenciamento de receptor tanto na terapia combinada, siRNA + NPs + vacina de DCs, quanto na terapia apenas com apenas siRNA + NPs em comparação com grupo controle e com apenas vacina de DCs. Após isso, foi observado o crescimento tumoral e a taxa de sobrevivência dos camundongos, onde a terapia combinada apresentou melhores resultados comparada com a terapia siRNA + NPs e apenas a vacina de DCs. Os mesmos resultados foram observados quando foi analisada a diminuição da imunossupressão do microambiente, bem como a angiogênese e metástase. De modo geral, observou-se que apesar do siRNA ser uma boa alternativa para silenciamento e para regressão tumoral, terapias combinadas podem ter um melhor efeito, podendo ser consideradas uma nova estratégia para combater o câncer.

Wu *et al.*, 2022 buscou analisar o efeito do CXCR4 no câncer esofágico de células escamosas (ESCC) e, também, avaliar a relação desse receptor com o HIF. Estudos mostram que esse receptor se encontra superexpresso em diversos tipos de cânceres, como o câncer de mama e de gastrico. Nos ensaios *in vitro*, além de ser analisada a relação do CXCR4 com a invasão e proliferação através do seu silenciamento, foi analisada a sua relação com a expressão do HIF. Foi visto que há uma maior expressão do receptor em condições de hipóxia, além disso, em culturas onde havia uma supressão de HIF, foi visto, também, uma menor expressão do receptor. Apesar desse estudo não analisar a partir de quais vias ocorre a interação HIF/CXCR4, foi possível observar tanto a importância da condição de hipóxia como a do receptor no processo carcinogênico.

O estudo da construção do sistema “Matryoshka” que carrega no seu interior um siRNA que tem como alvo o Ng-BR e, também, PTX , tem como objetivo restaurar a sensibilidade das células resistentes à quimioterapia (Xu *et al.*, 2022). Esse sistema apresenta várias camadas que devem ser degradadas aos poucos para depois liberar o seu conteúdo gradativamente. Então, após feita a construção do sistema (MONG-PPG) e avaliada a sua degradação para garantir a liberação do conteúdo, PTX e o siRNA foram inseridos. Depois foram feitos testes para confirmar o delivery específico, o escape lisossomal e a liberação do siRNA. Além disso, mais testes *in vitro* foram realizados para confirmar a sua biossegurança e efeitos terapêuticos. Ensaio pré-clínicos foram realizados para confirmar a acumulação do sistema nos sítios tumorais, através da imagem fotoacústica, que permite localizar o fármaco pelo corpo, além disso, mais ensaios confirmatórios foram realizados usando imunofluorescência. Outros ensaios foram realizados para comparar a eficácia do PTX, MONG-PPG-PTX e MONG-PPG-PTX/siRNA, onde foi visto que o grupo que MONG-PPG-PTX/siRNA mostrou melhor resultados que os outros grupos ao avaliar a redução do crescimento tumoral e o aumento da taxa de sobrevivência dos camundongos. De modo geral, esse sistema apresentou ótimos resultados devido a sua estrutura diversa que permite o reconhecimento de células resistentes, a estabilidade do seu conteúdo interno e a liberação do mesmo. Nesse estudo, também é possível observar uma melhor performance quando se usa terapia combinada.

## 6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados, observou-se que existem diferentes receptores no microambiente tumoral que podem estar envolvidos nos processos de angiogênese, metástase, resistência e invasão. Assim, eles se mostram uma parte importante para o processo carcinogênico, podendo ser considerados potenciais alvos para as estratégias terapêuticas, com o objetivo de aumentar a resposta anti-tumoral no microambiente. Além disso, observou-se que existem diferentes estratégias para o silenciamento gênico e que se mostram eficazes em diminuir a expressão dos receptores. Também, foi visto que o silenciamento é eficaz de maneira isolada, porém o uso de carreadores e de terapias combinadas podem ajudar ainda mais no seu potencial. Desse modo, a partir dessa revisão pode-se afirmar que o silenciamento de receptores pode ser uma estratégia para modular o microambiente tumoral, gerando uma resposta anti-tumoral.

## REFERÊNCIAS

- AHMED, H. et al. Role of T cells in cancer immunotherapy: Opportunities and challenges. **Cancer Pathogenesis and Therapy**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 116–126, 1 abr. 2023.
- A. KARPOV, Oleg *et al.* Receptor tyrosine kinase structure and function in health and disease. **AIMS Biophysics**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 476–502, 2015.
- ALLEMAILEM, K. S. *et al.* Innovative Strategies of Reprogramming Immune System Cells by Targeting CRISPR/Cas9-Based Genome-Editing Tools: A New Era of Cancer Management. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. Volume 18, p. 5531–5559, 2023.
- ANDERSON, Nicole M.; SIMON, M. Celeste. The tumor microenvironment. **Current Biology**, [s. l.], v. 30, n. 16, p. R921–R925, 2020.
- ARALDI, Rodrigo Pinheiro *et al.* The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 106, p. 1537–1556, 2018.
- ASHFAQ, Mohd Ashraf *et al.* Post-transcriptional gene silencing: Basic concepts and applications. **Journal of Biosciences**, [s. l.], v. 45, p. 128, 2020.
- ATZORI, M.G. *et al.* Role of VEGFR-1 in melanoma acquired resistance to the BRAF inhibitor vemurafenib. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 465–475, 2020.
- BABAR, Quratulain *et al.* Targeting the tumor microenvironment: Potential strategy for cancer therapeutics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, [s. l.], v. 1869, n. 6, p. 166746, 2023.
- BAGHY, Kornélia *et al.* Insights into the Tumor Microenvironment—Components, Functions and Therapeutics. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 24, p. 17536, 2023.
- BENNETT, Laura D.; FOX, James M.; SIGNORET, Nathalie. Mechanisms regulating chemokine receptor activity: Chemokine receptor regulation. **Immunology**, [s. l.], v. 134, n. 3, p. 246–256, 2011.
- BOBBIN, Maggie L.; ROSSI, John J. RNA Interference (RNAi)-Based Therapeutics: Delivering on the Promise?. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 103–122, 2016.
- BRIUKHOVETSKA, Daria *et al.* Interleukins in cancer: from biology to therapy. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 481–499, 2021.
- BUTTI, Ramesh *et al.* Receptor tyrosine kinases (RTKs) in breast cancer: signaling, therapeutic implications and challenges. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 34, 2018.

CAMPESATO, Luis Felipe *et al.* High IL-1R8 expression in breast tumors promotes tumor growth and contributes to impaired antitumor immunity. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 30, p. 49470–49483, 2017.

CÂNCER (BRASIL), Instituto Nacional de. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer**. [S. l.]: Inca, 2011.

CHARFI, C. *et al.* New Peptide-Drug Conjugates for Precise Targeting of SORT1-Mediated Vasculogenic Mimicry in the Tumor Microenvironment of TNBC-Derived MDA-MB-231 Breast and Ovarian ES-2 Clear Cell Carcinoma Cells. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 11, p. 760787, 2021

CHEN, Gaoqi *et al.* Role of hypoxia in the tumor microenvironment and targeted therapy. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 12, p. 961637, 2022.

CHEN, Ru-Yue *et al.* The role of PD-1 signaling in health and immune-related diseases. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1163633, 2023.

CHEN, X.; ZHANG, Y.; FU, Y. The Critical Role of Toll-like Receptor-mediated Signaling in Cancer Immunotherapy. **Medicine in Drug Discovery**, [s. l.], p. 100122, fev. 2022.

DE MARCO, R. C.; MONZO, H. J.; OJALA, P. M. CAR T Cell Therapy: A Versatile Living Drug. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 6300, 1 jan. 2023.

DEBELA, Dejene Tolossa *et al.* New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. **SAGE Open Medicine**, [s. l.], v. 9, p. 205031212110343, 2021.

DITURI, Francesco *et al.* Proteoglycans in Cancer: Friends or Enemies? A Special Focus on Hepatocellular Carcinoma. **Cancers**, [s. l.], v. 14, n. 8, p. 1902, 2022.

DORSAM, Robert T.; GUTKIND, J. Silvio. G-protein-coupled receptors and cancer. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 79–94, 2007.

DU, Zhenfang; LOVLY, Christine M. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. **Molecular Cancer**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 58, 2018.

DZOBO, Kevin; DANDARA, Collet. The Extracellular Matrix: Its Composition, Function, Remodeling, and Role in Tumorigenesis. **Biomimetics**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 146, 2023.

DZOBO, Kevin; SENTHEBANE, Dimakatso A.; DANDARA, Collet. The Tumor Microenvironment in Tumorigenesis and Therapy Resistance Revisited. **Cancers**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. 376, 2023.

EL-SAPPAH, Ahmed H. *et al.* Comprehensive Mechanism of Gene Silencing and Its Role in Plant Growth and Development. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 12, p. 705249, 2021.

EMAMI NEJAD, Asieh *et al.* The role of hypoxia in the tumor microenvironment and development of cancer stem cell: a novel approach to developing treatment. **Cancer Cell International**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 62, 2021.

FAROOQ, Mariya *et al.* Toll-Like Receptors as a Therapeutic Target in the Era of Immunotherapies. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 9, p. 756315, 2021.

FERNANDES, L. G. V. *et al.* Application of CRISPR Interference (CRISPRi) for Gene Silencing in Pathogenic Species of *Leptospira*. **Journal of Visualized Experiments**, [s. l.], n. 174, p. 62631, 2021.

GAO, Fangfang *et al.* The Membrane Protein Sortilin Can Be Targeted to Inhibit Pancreatic Cancer Cell Invasion. **The American Journal of Pathology**, [s. l.], v. 190, n. 9, p. 1931–1942, 2020.

GESSI, Stefania *et al.* Adenosine receptors and cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, [s. l.], v. 1808, n. 5, p. 1400–1412, 2011.

GUAN, Qianting *et al.* Strategies to reinvigorate exhausted CD8+ T cells in tumor microenvironment. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1204363, 2023.

HATTAB, Dima; BAKHTIAR, Athirah. Bioengineered siRNA-Based Nanoplatfroms Targeting Molecular Signaling Pathways for the Treatment of Triple Negative Breast Cancer: Preclinical and Clinical Advancements. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 12, n. 10, p. 929, 2020.

HILLARY, V. Edwin; CEASAR, S. Antony. A Review on the Mechanism and Applications of CRISPR/Cas9/Cas12/Cas13/Cas14 Proteins Utilized for Genome Engineering. **Molecular Biotechnology**, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 311–325, 2023.

HOSONUMA, Masahiro; YOSHIMURA, Kiyoshi. Association between pH regulation of the tumor microenvironment and immunological state. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 13, p. 1175563, 2023.

HU, Li *et al.* Ablation of T cell-associated PD-1H enhances functionality and promotes adoptive immunotherapy. **JCI Insight**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. e148247, 2022.

HUANG, Jiacheng *et al.* Extracellular matrix and its therapeutic potential for cancer treatment. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 153, 2021.

HUGHES, Catherine E.; NIBBS, Robert J. B. A guide to chemokines and their receptors. **The FEBS Journal**, [s. l.], v. 285, n. 16, p. 2944–2971, 2018.

JIANG, Lingxi *et al.* Remodeling the tumor immune microenvironment via siRNA therapy for precision cancer treatment. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 100852, 2023.

JIANG, N. *et al.* The effect of TLR4 on the growth and local inflammatory microenvironment of HPV-related cervical cancer in vivo. **Infectious Agents and Cancer**, [s. l.], v. 15, n. 1, 2020.

JIANG, Xianjie *et al.* The role of microenvironment in tumor angiogenesis. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 204, 2020.

JIANG, Ninghong *et al.* Toll-like receptor 4 promotes proliferation and apoptosis resistance in human papillomavirus-related cervical cancer cells through the Toll-like receptor 4/nuclear factor- $\kappa$ B pathway. **Tumor Biology**, [s. l.], v. 39, n. 6, p. 101042831771058, 2017.

JIANG, Y; LI, Y; ZHU, B. T-cell exhaustion in the tumor microenvironment. **Cell Death & Disease**, [s. l.], v. 6, n. 6, p. e1792–e1792, 2015.

JIN, Xiyun *et al.* Identification of shared characteristics in tumor-infiltrating T cells across 15 cancers. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, [s. l.], v. 32, p. 189–202, 2023.

KANNAN, Saranya; RUTKOWSKI, Joseph M. VEGFR-3 signaling in macrophages: friend or foe in disease?. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 15, p. 1349500, 2024.

KORBECKI, Jan *et al.* CC Chemokines in a Tumor: A Review of Pro-Cancer and Anti-Cancer Properties of the Ligands of Receptors CCR1, CCR2, CCR3, and CCR4. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 21, p. 8412, 2020.

LAM, Jenny K W *et al.* siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, [s. l.], v. 4, p. e252, 2015.

LANDOLINA, Nadine *et al.* IL-1R8 silencing improves the anti-tumor function of freshly isolated human NK cells. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. e003858, 2022.

LAPPANO, Rosamaria; MAGGIOLINI, Marcello. GPCRs and cancer. **Acta Pharmacologica Sinica**, [s. l.], v. 33, n. 3, p. 351–362, 2012.

LI, Meng *et al.* Integrins as attractive targets for cancer therapeutics. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. 2726–2737, 2021.

LI, Jing *et al.* The role of toll-like receptor 4 in tumor microenvironment. **Oncotarget**, [s. l.], v. 8, n. 39, p. 66656–66667, 2017.

LI, Yue; ZHAO, Long; LI, Xiao-Feng. Hypoxia and the Tumor Microenvironment. **Technology in Cancer Research & Treatment**, [s. l.], v. 20, p. 153303382110363, 2021.

LIM, Dansaem *et al.* Angiogenesis and vasculogenic mimicry as therapeutic targets in ovarian cancer. **BMB Reports**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 291–298, 2020.

LIU, Zhen-Ling *et al.* Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for

cancer. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 198, 2023.

LIU, Fangfang *et al.* Integrins in cancer: Emerging mechanisms and therapeutic opportunities. **Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 247, p. 108458, 2023.

LIU, Yuan-Rong *et al.* MicroRNAs as Therapeutic Targets for Anticancer Drugs in Lung Cancer Therapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 20, n. 16, p. 1883–1894, 2020.

LIU, Jinhua *et al.* PD-1/PD-L1 Checkpoint Inhibitors in Tumor Immunotherapy. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 12, p. 731798, 2021.

LIU, Lihui *et al.* Tumor immune microenvironment in epidermal growth factor receptor-mutated non-small cell lung cancer before and after epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor treatment: a narrative review. **Translational Lung Cancer Research**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 3823–3839, 2021.

LONGMATE, Whitney; DIPERSIO, C Michael. Beyond adhesion: emerging roles for integrins in control of the tumor microenvironment. **F1000Research**, [s. l.], v. 6, p. 1612, 2017.

LUGANO, Roberta; RAMACHANDRAN, Mohanraj; DIMBERG, Anna. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [s. l.], v. 77, n. 9, p. 1745–1770, 2020.

MA, Yang *et al.* Dendritic Cells in the Cancer Microenvironment. **Journal of Cancer**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 36–44, 2013.

MABETA, Peace; STEENKAMP, Vanessa. The VEGF/VEGFR Axis Revisited: Implications for Cancer Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 24, p. 15585, 2022.

MADEDDU, Clelia *et al.* EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer and Resistance to Immunotherapy: Role of the Tumor Microenvironment. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, n. 12, p. 6489, 2022.

MARIOTTI, Francesca R. *et al.* IL-1R8: A molecular brake of anti-tumor and anti-viral activity of NK cells and ILC. **Seminars in Immunology**, [s. l.], v. 66, p. 101712, 2023.

MARUYAMA, Ichiro. Mechanisms of Activation of Receptor Tyrosine Kinases: Monomers or Dimers. **Cells**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 304–330, 2014.

MASJEDI, Ali *et al.* Silencing adenosine A2a receptor enhances dendritic cell-based cancer immunotherapy. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [s. l.], v. 29, p. 102240, 2020.

MENGSTIE, Misganaw Asmamaw; WONDIMU, Belay Zawdie. Mechanism and Applications of CRISPR/Cas-9-Mediated Genome Editing. **Biologics: Targets and Therapy**, [s. l.], v. Volume 15, p. 353–361, 2021.

MOKHTARI, Yazdan *et al.* Toll-like receptors (TLRs): An old family of immune receptors with a new face in cancer pathogenesis. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 639–651, 2021.

MOLGORA, Martina *et al.* Regulatory Role of IL-1R8 in Immunity and Disease. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 7, 2016.

MOLLICA POETA, Valeria *et al.* Chemokines and Chemokine Receptors: New Targets for Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 10, p. 379, 2019.

MROWEH, Mariam *et al.* Modulating the Crosstalk between the Tumor and Its Microenvironment Using RNA Interference: A Treatment Strategy for Hepatocellular Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 15, p. 5250, 2020.

MUSTAFA, Sabeena; KORAN, Sheeja; ALOMAIR, Lamya. Insights Into the Role of Matrix Metalloproteinases in Cancer and its Various Therapeutic Aspects: A Review. **Frontiers in Molecular Biosciences**, [s. l.], v. 9, p. 896099, 2022.

NALLANTHIGHAL, Sameera; HEISERMAN, James Patrick; CHEON, Dong-Joo. The Role of the Extracellular Matrix in Cancer Stemness. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 7, p. 86, 2019.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. **CAR T Cells: Engineering Immune Cells to Treat Cancer.** Disponível em: <<https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>>.

NEWTON, Hannah S. *et al.* Targeted knockdown of the adenosine A2A receptor by lipid NPs rescues the chemotaxis of head and neck cancer memory T cells. **Molecular Therapy - Methods & Clinical Development**, [s. l.], v. 21, p. 133–143, 2021.

NISHIWADA, Satoshi *et al.* Clinical significance and functional role of adhesion G-protein-coupled receptors in human pancreatic ductal adenocarcinoma. **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 321–330, 2023.

OHTA, Akio. A Metabolic Immune Checkpoint: Adenosine in Tumor Microenvironment. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 7, 2016.

OZGA, Aleksandra J.; CHOW, Melvyn T.; LUSTER, Andrew D. Chemokines and the immune response to cancer. **Immunity**, [s. l.], v. 54, n. 5, p. 859–874, 2021.

PERNOT, Simon; EVRARD, Serge; KHATIB, Abdel-Majid. The Give-and-Take Interaction Between the Tumor Microenvironment and Immune Cells Regulating Tumor Progression and Repression. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 13, p. 850856, 2022.

QIAN, Jie *et al.* SRA inhibition improves antitumor potency of antigen-targeted chaperone vaccine. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1118781, 2023.

RIBEIRO FRANCO, Pablo Igor *et al.* Tumor microenvironment components: Allies of cancer progression. **Pathology - Research and Practice**, [s. l.], v. 216, n. 1, p. 152729, 2020.

SEK, Kevin *et al.* Targeting Adenosine Receptor Signaling in Cancer Immunotherapy. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 19, n. 12, p. 3837, 2018.

SHARPE, Arlene H.; PAUKEN, Kristen E. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 153–167, 2018.

SHIBUYA, M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. **Genes & Cancer**, [s. l.], v. 2, n. 12, p. 1097–1105, 2011.

STONE, Martin *et al.* Mechanisms of Regulation of the Chemokine-Receptor Network. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 342, 2017.

SUN, Changfa; WANG, Bochu; HAO, Shilei. Adenosine-A2A Receptor Pathway in Cancer Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 13, p. 837230, 2022.

TONG, Liangnan *et al.* Research Status and Prospect of Non-Viral Vectors Based on siRNA: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 3375, 2023.

TORRES-RUIZ, Sandra *et al.* High VEGFR3 Expression Reduces Doxorubicin Efficacy in Triple-Negative Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 3601, 2023.

VIJAY, Kumar. Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. **International Immunopharmacology**, [s. l.], v. 59, p. 391–412, 2018.

WALDMAN, Alex D.; FRITZ, Jill M.; LENARDO, Michael J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 20, n. 11, p. 651–668, 2020.

WANG, Yong-Cang *et al.* Association Between EphA1 and Tumor Microenvironment in Gastric Carcinoma and its Clinical Significance. **Medical Science Monitor**, [s. l.], v. 26, 2020.

WANG, Bin *et al.* Targeting hypoxia in the tumor microenvironment: a potential strategy to improve cancer immunotherapy. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 40, n. 1, p. 24, 2021.

WANG, Huogang *et al.* The Impact of the Tumor Microenvironment on Macrophage Polarization in Cancer Metastatic Progression. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 6560, 2021.

WANG, Xiaodong *et al.* Tumor cell-intrinsic PD-1 receptor is a tumor suppressor and mediates resistance to PD-1 blockade therapy. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 117, n. 12, p. 6640–6650, 2020.

WEI, Rui *et al.* Cellular and Extracellular Components in Tumor Microenvironment and Their Application in Early Diagnosis of Cancers. **Analytical Cellular Pathology**, [s. l.], v. 2020, p. 1–13, 2020.

WEINBERG, Marc S.; MORRIS, Kevin V. Transcriptional gene silencing in humans. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 44, n. 14, p. 6505–6517, 2016.

WEN, Yalei *et al.* Chronic inflammation, cancer development and immunotherapy. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 13, p. 1040163, 2022.

WINKLER, Juliane *et al.* Concepts of extracellular matrix remodelling in tumour progression and metastasis. **Nature Communications**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 5120, 2020.

WU, Xianxian *et al.* CXCR4 promotes the growth and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma as a critical downstream mediator of HIF-1 $\alpha$ . **Cancer Science**, [s. l.], v. 113, n. 3, p. 926–939, 2022.

WU, Lingyun *et al.* Tumor-Associated Neutrophils in Cancer: Going Pro. **Cancers**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 564, 2019.

WU, L.; SAXENA, S.; SINGH, R. K. Neutrophils in the Tumor Microenvironment. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 1–20, 2020.

XIAO, Yi; YU, Dihua. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. **Pharmacology & Therapeutics**, [s. l.], v. 221, p. 107753, 2021.

XIE, Shenxia *et al.* Endoglin-Aptamer-Functionalized Liposome-Equipped PD-1-Silenced T Cells Enhance Antitumoral Immunotherapeutic Effects. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. Volume 16, p. 6017–6034, 2021.

XIONG, Shumin; DONG, Liaoliao; CHENG, Lin. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. **Journal of Hematology & Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 173, 2021.

XU, S. *et al.* The role of collagen in cancer: from bench to bedside. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, 14 set. 2019.

XU, Xinzhi *et al.* Activatable “Matryoshka” nanosystem delivery NgBR siRNA and control drug release for stepwise therapy and evaluate drug resistance cancer. **Materials Today Bio**, [s. l.], v. 14, p. 100245, 2022.

YI, Ming *et al.* Regulation of PD-L1 expression in the tumor microenvironment. **Journal of Hematology & Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 10, 2021.

YU, X. *et al.* Scavenger Receptors: Emerging Roles in Cancer Biology and

Immunology. **Advances in cancer research**, [s. l.], v. 128, p. 309–364, 2015.

YU, Shan *et al.* The Role of G Protein-coupled Receptor Kinases in Cancer. **International Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 189–203, 2018.

ZHANG, Chunxue *et al.* CAFs orchestrates tumor immune microenvironment—A new target in cancer therapy?. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 14, p. 1113378, 2023.

ZHANG, Riyu *et al.* Gene Silencing Through CRISPR Interference in Bacteria: Current Advances and Future Prospects. **Frontiers in Microbiology**, [s. l.], v. 12, p. 635227, 2021.

ZHANG, Zhen *et al.* T Cell Dysfunction and Exhaustion in Cancer. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, [s. l.], v. 8, p. 17, 2020.

ZHANG, Cai; HU, Yuan; SHI, Chongdeng. Targeting Natural Killer Cells for Tumor Immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 11, p. 60, 2020.

ZHAO, Huakan *et al.* Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 263, 2021.

ZHOU, Jing-e *et al.* ShRNA-mediated silencing of PD-1 augments the efficacy of chimeric antigen receptor T cells on subcutaneous prostate and leukemia xenograft. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 137, p. 111339, 2021.

ZILIO, Serena *et al.* CCR1 and CCR5 mediate cancer-induced myelopoiesis and differentiation of myeloid cells in the tumor. **Journal for ImmunoTherapy of Cancer**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. e003131, 2022.