

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
Curso de Biomedicina

Luciana Faria Righi

**DESCRIÇÃO DO MICROAMBIENTE TUMORAL DE MELANOMA
EVIDENCIANDO OS TIPOS CELULARES DE INFILTRADO
INFLAMATÓRIO, MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO TUMOR E
PERICITOS**

São Paulo
2018

Luciana Faria Righi

**DESCRIÇÃO DO MICROAMBIENTE TUMORAL DE MELANOMA
EVIDENCIANDO OS TIPOS CELULARES DE INFILTRADO
INFLAMATÓRIO, MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO TUMOR E
PERICITOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Michelangelo Juvenale, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2018

Luciana Faria Righi

**DESCRIÇÃO DO MICROAMBIENTE TUMORAL DE MELANOMA
EVIDENCIANDO OS TIPOS CELULARES DE INFILTRADO
INFLAMATÓRIO, MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO TUMOR E
PERICITOS**

São Paulo, 01 de novembro de 2018

Professor Orientador: Prof. Dr. Michelangelo Juvenale

Professor Examinador: Profa. Dra. Beatriz Helena Pizarro de Lorenzo

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais Luciano Azevedo Righi e Beatriz de Aguiar Faria Piasentin, e ao meu padrasto Leonardo Felipe Binda Piasentin.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, aos meus pais, Luciano e Beatriz, e ao meu padrasto, Leonardo Felipe, por sempre acreditarem em mim e por todo apoio que me dão desde pequena, sem vocês eu não chegaria onde estou hoje. Obrigada por todas as oportunidades que vocês me deram.

A toda a minha família, em especial as minhas avós Maria Helena e Maria Júlia, e aos meus primos queridos, Guilherme, Joyce e Rafael, obrigada por todos os momentos de descontração e conversas, todos esses momentos foram muito importantes para mim ao longo desses anos.

A todos os amigos, que a graduação trouxe para minha vida: Giulia Prates, Giulia Toffolo, Luana, Amanda, Marina Moderoso, Carolina, Neice e Suzana, gostaria de agradecer por todas as conversas, desabafos, trabalhos em grupo, horas de estudos e todas as histórias que compartilhamos.

Ao meu grupo: Larissa, Letícia e Marina Leonardo, pela amizade incrível, obrigada por entrarem na minha vida durante esses quatro anos, ao lado de vocês eu consegui aproveitar cada segundo do que é uma graduação, desde conversas angustiadas sobre trabalhos e provas, horas de estudos a todas as festas e bares, vocês se tornaram a minha segunda família, obrigada por todos os segredos e desabafos, por todas as brincadeiras e discussões, por todos os momentos felizes e engraçados e também pelos momentos de desespero e alguns tristes, vocês sempre estiveram lá para me apoiar em todas as decisões. Espero levar essa amizade para vida toda.

Ao meu melhor amigo e companheiro, Caio Vinícius, desde o início você sempre me apoiou e acreditou em mim, mesmo quando eu não acreditava, obrigada por ter sido o meu porto seguro durante esses anos.

Ao pessoal do Lab Jane, Camila, Gabriela, Bárbara, Renata, Carol, Rodrigo e Tábata, obrigada por toda a paciência e ensinamentos durante minha iniciação científica e estágio supervisionado e, em especial, a Prof. Dra. Jane Zveiter de Moraes, por ter me dado essa grande oportunidade de conhecer a área da pesquisa e me fazer apaixonar pela área da Imunologia.

À Vivian, minha chefe de estágio supervisionado, obrigada pela oportunidade de aprender com seus conhecimentos sobre uma área tão linda, que se tornou minha outra paixão, a Biomedicina Estética, e também a Sylvia, minha companheira de estágio, mesmo nos conhecendo no final dessa experiência, que é a graduação, você se tornou uma grande amiga e colega de trabalho, obrigada por encher meus dias de alegria na clínica e por todas as histórias e momentos compartilhados.

Ao meu orientador Prof. Dr. Michelangelo Juvenale, por ter aceitado e apoiado o meu trabalho. Obrigada por todas as conversas e ensinamentos e agradeço por acreditar em mim.

Aos meus colegas da turma B, obrigada por cada momento, melhor sala desse universo.

A todos os docentes do curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, graças a vocês eu tenho orgulho de dizer que sou Camiliana.

“Você tem que lutar por alguns dias ruins para ganhar os melhores dias de sua vida.”

Autor desconhecido

RIGHI, L. F. **Descrição do microambiente tumoral de melanoma evidenciando os tipos celulares de infiltrado inflamatório, macrófagos associados ao tumor e pericitos.** 2018. 77f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

Atualmente, o câncer vem sendo estudado como um microambiente, pois é assim que é possível identificar a interação de células alteradas e normais, como fibroblastos, células do Sistema Imune e células endoteliais, além de vasos e substâncias provenientes da circulação sanguínea. O melanoma é o tipo de câncer de pele mais agressivo e com maior índice de mortalidade e ocorre devido à transformação maligna das células que são responsáveis pela pigmentação da pele, os melanócitos. As células tumorais de melanoma expressam vários tipos de citocinas e quimiocinas, que agem em outras células, favorecendo a progressão e disseminação do tumor. Essas células estimulam a resposta imune ao tumor, ou seja, induzem a angiogênese e auxiliam no crescimento do tumor, alteram o microambiente tumoral e facilitam a ocorrência de metástases para órgãos alvos específicos. Monócitos são recrutados da circulação e uma vez no tecido, serão diferenciados em macrófagos, com fenótipos diferentes. Existem dois grupos de macrófagos, classificados de acordo com seu modo de ativação, receptores e citocinas: M1 e M2. Nos tumores, passam a ser chamados de “macrófagos associados ao tumor” (*TAM –tumor-associated macrophages*), e são recrutados pelas células alteradas, com uma diminuição da função imune e uma exacerbação de sua função trófica. A angiogênese leva à formação de vasos irregulares, sem organização e com a presença de poucos pericitos, que são as células que residem nos vasos e possui diversas funções, causando um fluxo sanguíneo deficiente e permeável característico do tumor.

Palavras-chave: Linfócitos B. Linfócitos T. Macrófagos. Melanoma. Microambiente tumoral. Pericitos. Sistema Imunitário.

RIGHI, L. F. **Description of the tumor microenvironment of melanoma evidencing the cell types of inflammatory infiltrate, tumor associated macrophages and pericytes.** 2018. 77f. Course Conclusion Paper (Graduation in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo, São Paulo, 2018.

Currently, cancer has been studied as a microenvironment, since it is thus possible to identify the interaction of altered and normal cells, such as fibroblasts, immune cells and endothelial cells, as well as vessels and substances from the bloodstream. Melanoma is the most aggressive type of skin cancer with a higher mortality rate due to the malignant transformation of the cells that are responsible for skin pigmentation, melanocytes. Melanoma tumor cells express various types of cytokines and chemokines, which act on other cells, favoring the progression and spread of the tumor. These cells stimulate the immune response to the tumor, induce tumor angiogenesis and assist in tumor growth, altering the tumor microenvironment and facilitating the occurrence of metastases to specific target organs. Monocytes are recruited from the circulation and once in the tissue, they will be differentiated into macrophages, with different phenotypes. There are two groups of macrophages, classified according to their mode of activation, receptors and cytokines: M1 and M2. In tumors, they are called tumor associated macrophages (TAM), and are recruited by altered cells, with a decrease in immune function and an exacerbation of their trophic function. Tumor angiogenesis leads to the formation of irregular vessels, without organization and with the presence of few pericytes, which are the cells that reside in the vessels and have several functions, causing a poor blood flow and permeable characteristic of the tumor.

Palavras-chave: Melanoma. Microambiente Tumoral. Linfócitos T. Linfócitos B. Sistema Imune. Macrófagos Associados ao Tumor. Pericitos.

Keywords: Lymphocytes B. Lymphocytes T. Macrophages. Melanoma. Tumor Microenvironment. Immune System.

Lista de figuras

Figura 1 – Microambiente tumoral.....	16
Figura 2 – Melanoma de disseminação superficial.....	22
Figura 3 – Melanoma nodular.....	23
Figura 4 – Melanoma lentigo maligno	24
Figura 5 – Melanoma lentiginoso acral.....	25
Figura 6 – Melanoma uveal: ultrassom (a). Fotografia macroscópica (b).....	26
Figura 7 – Critério de diagnóstico das lesões de melanoma (ABCDE do Melanoma)	27
Figura 8 – Características do câncer.....	30
Figura 9 – Cicatrização de feridas (a). Crescimento tumoral invasivo (b)	31
Figura 10 – Via STAT3 ativada pela IL-6	33
Figura 11 – Microambiente tumoral de melanoma	36
Figura 12 – Células tumorais de melanoma e quimiocinas	37
Figura 13 – Neutrófilos associados ao tumor	47
Figura 14 – Papel dos macrófagos associados ao tumor na progressão tumoral	49
Figura 15 – Ativação clássica dos macrófagos	50
Figura 16 – Ativação alternativa dos macrófagos.....	51
Figura 17 – Desenho esquemático do papel dos pericitos na angiogênese e metástase tumoral	55

Lista de siglas e abreviaturas

OMS Organização Mundial da Saúde
INCA Instituto Nacional do Câncer
M1 Macrófagos 1
M2 Macrófagos 2
IFN- γ Interferon-gama
IL Interleucinas
VEGF Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VEGFR Receptor de Crescimento Endotelial Vascular
iNOS Óxido Nítrico Sintase
TAM Macrófagos Associados ao Tumor
RNA Ácido Ribonucleico
UV Raios Ultravioleta
DNA Ácido desoxirribonucleico
EROS Espécies Reativas de Oxigênio
ERNS Espécies Reativas de Nitrogênio
TNF- α Fator de Necrose Tumoral
TGF- β 1 Fator De Transformação do Crescimento Beta
CXC/CC Quimiocinas
CXCR/CCR Receptor de Quimiocinas
IFN- α Interferon-alfa
OPN Osteopontina
GM-CSF Fator Estimulante de Colônias de Macrófagos
APCs Células Apresentadoras De Antígenos
NK *Natural Killer*
MHC complexo principal de histocompatibilidade
LTh linfócito T-*helper*
LTc Linfócito T-citotóxico
LTs Linfócito T-supressor
TAN Neutrófilos Associados ao Tumor
N1 Neutrófilo 1
N2 Neutrófilo 2
ICAM1 Molécula de Adesão Intercelular 1

ROI Oxigênio Reativo

MMP9 Metaloproteinase

α -SMA Actina do Músculo Liso Alfa

PDGFR β Receptor Beta do Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

NG2 Antígeno Glial-2

Lista de símbolos

cm centímetro

mm milímetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	18
3 MÉTODOS	19
4 DESENVOLVIMENTO	20
4.1 Câncer	20
4.2 Melanoma	21
4.3 Microambiente tumoral.....	29
4.3.1 Microambiente tumoral de melanoma	35
4.4 Infiltrado inflamatório e câncer	39
4.4.1 Sistema Imune	39
4.4.2 Sistema Imune e câncer	40
4.4.3 Linfócitos.....	40
4.4.4 Linfócitos T	41
4.4.5 Linfócitos B	43
4.4.6 Células NK.....	45
4.4.7 Células fagocitárias e neutrófilos associados ao tumor	45
4.5 Macrófagos associados ao tumor	48
4.6 Pericitos.....	52
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

O câncer surge a partir de células que sofreram mutações ou alterações genéticas, resultante de uma grande variedade de fatores; estas possuem crescimento desordenado e acometem tecidos e órgãos; podem se espalhar por meio de vasos sanguíneos ou linfáticos para outras regiões do corpo, formando metástases (INCA – Instituto Nacional do Câncer, 2018).

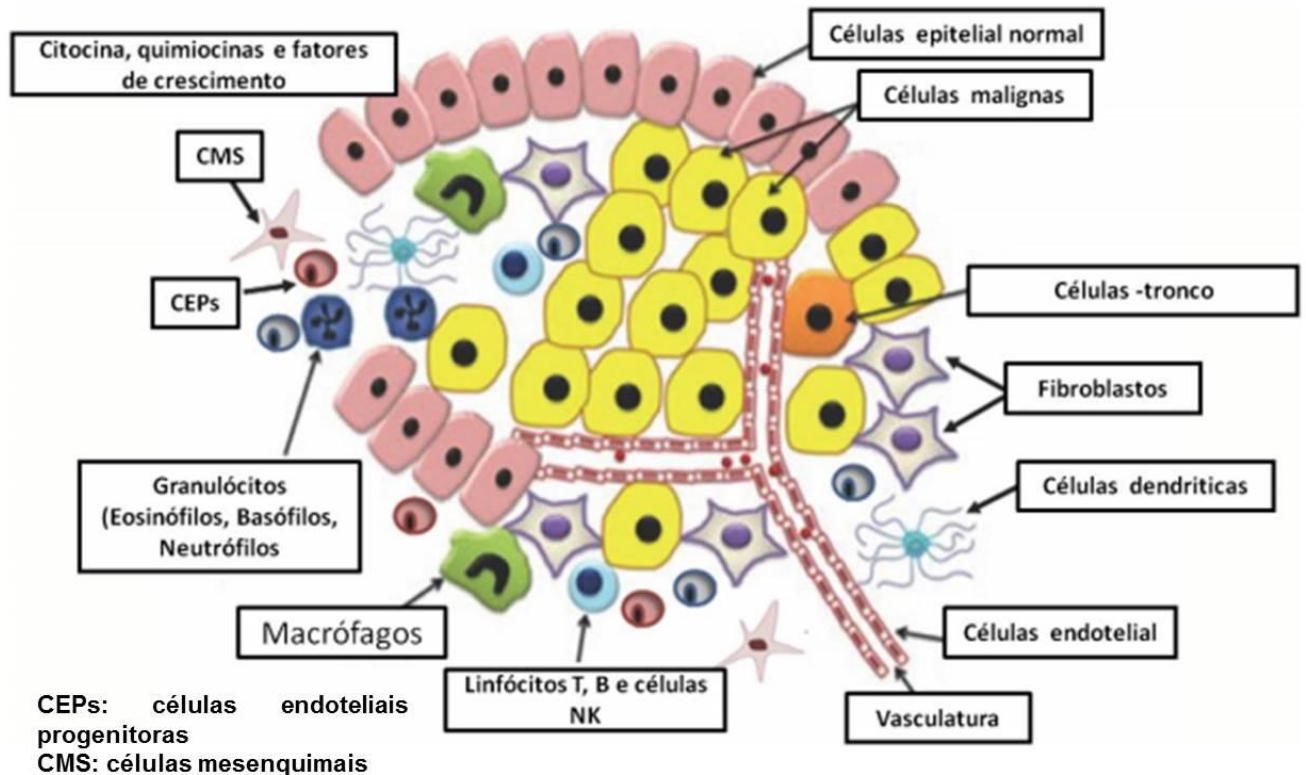
Para a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é um importante problema de saúde pública, principalmente nos países em desenvolvimento, onde são esperados 27 milhões de casos novos de câncer para 2030 e 17 milhões de mortes por câncer (OMS, 2017). De acordo com os dados da GLOBOCAN, em 2012, foram estimados 14 milhões de casos novos em todo o mundo, sendo que 8 milhões foram a óbito.

O melanoma é o tipo de câncer de pele mais agressivo e com maior índice de mortalidade, ocorre devido à transformação maligna das células, que são responsáveis pela pigmentação da pele, os melanócitos. A sua agressividade é caracterizada por uma alta capacidade de formar metástases e, geralmente nessa fase, o paciente não responde à terapia, indo a óbito em poucos meses (SANDRU *et al.*, 2015).

No Brasil, o câncer de pele representa cerca de 30% de tumores malignos, e 3% correspondem ao melanoma. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no ano de 2016 foi de 5.670 casos novos de melanoma: 3.000 homens e 2.670 mulheres.

Atualmente, o câncer vem sendo estudado como um microambiente (figura 1), pois é assim que é possível identificar a interação de células alteradas e normais, como fibroblastos, células do Sistema Imune, e células endoteliais, além de vasos e substâncias provenientes da circulação sanguínea. As células do Sistema Imune, no microambiente tumoral, têm demonstrado ser de grande significância, pois o infiltrado inflamatório interfere no desenvolvimento e crescimento do tumor, uma vez que a inflamação crônica é um dos fatores epigenéticos que mais contribuem para esta formação (HANAHAN; WEINBERG, 2000; CORREA *et al.*, 2005; CONDEELIS; POLLARD, 2006).

Figura 1 – Microambiente tumoral



Fonte: Modificado de (UPRETI; JYOTI; SETHI, 2013).

As células tumorais produzem várias citocinas e quimiocinas, que atraem uma população de leucócitos diversificada como neutrófilos, células dendríticas, macrófagos, eosinófilos e mastócitos, bem como linfócitos, todos capazes de produzir uma variedade de citocinas e mediadores citotóxicos, incluindo espécies reativas de oxigênio (EROS), proteases, agentes de perfuração à membrana e mediadores de morte celular (WAHL; KLEINMAN, 1998).

Monócitos são recrutados da circulação, e, uma vez no tecido, serão diferenciados em macrófagos com fenótipos diferentes. Existem dois grupos de macrófagos, classificados de acordo com seu modo de ativação, receptores e citocinas: M1 e M2. Os macrófagos do tipo M1 são ativados por produtos microbianos ou interferon-gama (IFN- γ), produzem citocinas pró-inflamatórias e atuam na resposta contra patógenos e células tumorais. Já os macrófagos do tipo M2 são ativados por citocinas como as interleucinas (IL): IL-4, IL-10 e IL-13, possuem receptores de manose e galactose, e produzem o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), IL-6, IL-10, prostaglandinas, óxido nítrico sintase (iNOS), agindo no reparo tecidual, remodelação de matriz e angiogênese, contribuindo para

a progressão tumoral. Nos tumores, passam a ser chamados de “macrófagos associados ao tumor” (*TAM –tumor-associated macrophages*), e são recrutados pelas células alteradas, com uma diminuição da função imune e uma exacerbação de sua função trófica (COUSSENS; WERB, 2002; CONDEELIS; POLLARD, 2006).

Os pericitos são células que residem nos vasos ao redor das células endoteliais, são responsáveis pela contratilidade dos vasos e pela regulação da proliferação das células endoteliais (ARMULIK; GENOVÉ; BETSHOLTZ, 2011).

A formação de novos vasos sanguíneos ocorre com o aumento da quantidade de fatores pró-angiogênicos, que removem os pericitos, que revestem os vasos pré-existentes. Com a ausência dos pericitos, ocorre a degradação e remodelação da membrana basal vascular e da membrana extracelular, essa remodelação quando associada a fatores pró-angiogênicos, estimula a migração e proliferação das células endoteliais, formando pequenos vasos sanguíneos instáveis. Após a formação desses pequenos vasos, os pericitos são recrutados para a superfície dos mesmos, retornando as interações entre os pericitos e as células endoteliais, tendo a formação de vasos sanguíneos estáveis (MILLER; ISENBERG; ROBERTS, 2009; BAGULHO, 2012).

A angiogênese tumoral possui características distintas da angiogênese fisiológica, já que ela não apresenta uma regulação morfológica do processo e nem um equilíbrio entre os fatores pró e anti-angiogênicos, levando à formação de vasos irregulares, sem organização e com a presença de poucos pericitos, ocorrendo um fluxo sanguíneo deficiente e permeável, característico do tumor (MORIKAWA *et al.*, 2002).

2 OBJETIVOS

Realizar uma revisão bibliográfica em bases de dados científicos, portais de revistas eletrônicas e portais de pesquisa, sintetizando as informações mais recentes sobre os tipos celulares envolvidos no microambiente tumoral de melanoma, com maior enfoque no infiltrado inflamatório, macrófagos associados ao tumor e pericitos, bem como as citocinas expressas pelos mesmos e as suas respectivas funções e contribuições para progressão tumoral.

3 MÉTODOS

Trata-se de uma revisão de narrativa, cujas fontes de informação foram a base de dados PubMed/MedLine, além do portal de revistas eletrônicas SciELO, Google Acadêmico e o acervo bibliográfico da biblioteca Padre Inocente Radrizzani. A busca foi realizada por meio dos seguintes descritores em português, e seu equivalente em inglês: *microambiente tumoral, melanoma, linfócitos, macrófagos associados ao tumor e pericitos*. Não foram adotados critérios de inclusão ou exclusão de referências, mas a adoção daquelas que corroboravam a linha de raciocínio desenvolvida. Os artigos e textos consultados concentram-se no idioma inglês, mas há referências em português, no período entre os anos de 1970 e 2018.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Câncer

Atualmente, existe uma aceitação geral de que tumores surgem a partir do acúmulo de alterações genéticas, que afetam o controle do crescimento celular. Sendo assim, existem três classes de genes que contribuem para o desenvolvimento do câncer. São elas: os oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo do DNA (SPENCE; JOHNSTON, 2001).

Os oncogenes são formas modificadas de genes celulares normais. Foram descobertos na transdução do ácido ribonucleico (RNA) de vírus de tumores que adquiriram genes celulares por transdução, se tornam oncogenes ativados quando incorporam o genoma viral e a ativação deste oncogene causa uma disfunção nas vias de sinalização, pela qual uma célula se divide ou permanece latente. Essas vias de sinalização possuem um complexo conjunto de fatores de crescimento, receptores do fator de crescimento, transdutores intracelulares e fatores de transcrição. A segunda classe são os genes supressores de tumor, esses são reguladores negativos do crescimento celular. Quando ocorre uma perda ou inativação desse gene, temos como resultado a perda da inibição do crescimento celular. Alguns exemplos são os genes Rb do retinoblastoma e o p53, que atuam inibindo a proliferação celular. Assim, se ocorre a perda da função devido a alteração genética, conseqüentemente contribui para a progressão tumoral. Os genes supressores de tumor possuem uma natureza recessiva, sendo necessária a perda ou inativação de ambas as cópias do gene, para contribuir com a malignidade (SPENCE; JOHNSTON, 2001; LOPES, 2013).

Nossas células normalmente possuem diversos mecanismos de reparo, que são capazes de identificar possíveis alterações genéticas que, quando identificadas, promovem a ativação da apoptose ou realizam o reparo necessário; já nas células tumorais, esses mecanismos são falhos, logo, ocorre uma instabilidade cromossômica, que leva ao surgimento de inúmeras alterações moleculares (LOPES, 2013).

As formações neoplásicas, por sua vez, podem ser divididas em duas categorias: benignas e malignas. O que as diferencia são as características macro e microscópicas. Geralmente, as neoplasias benignas não causam problemas sérios

para o hospedeiro, e na maioria das vezes, não são letais. Assim, evoluem de maneira mais lenta, não colocando em risco a vida do enfermo. As malignas possuem uma evolução rápida e provocam perturbações homeostáticas graves no hospedeiro, levando o indivíduo ao óbito. Atualmente, são a segunda causa de morte nos países desenvolvidos (BRASILEIRO FILHO, 2013; LOPES, 2013).

4.2 Melanoma

O melanoma, como já dito, é o tipo de câncer de pele mais agressivo e com maior índice de mortalidade. Ocorre devido à transformação maligna das células que são responsáveis pela pigmentação da pele, os melanócitos. Estas células são derivadas da crista neural, sendo assim, podem surgir principalmente na pele, mas também pode acometer mucosa e outras áreas para onde essas células podem ter migrado durante a embriogênese. Sua agressividade é caracterizada por uma alta capacidade de formar metástases, e geralmente nessa fase, o paciente não responde à terapia (MARTINS *et al.*, 2009; SANDRU *et al.*, 2015).

A causa do melanoma ainda não é muito bem esclarecida. Sabe-se que indivíduos de pele clara, ruivos ou loiros, e que possuem uma maior sensibilidade ao sol, assim como histórico de queimaduras de sol e uma maior quantidade de nevos, podem estar mais suscetíveis a desenvolver melanoma. A quantidade de nevos em um indivíduo é um fenótipo herdado e pode estar relacionado à doença, além de serem marcadores importantes para rastrear o melanoma (MARTINS *et al.*, 2009).

Sabe-se que a exposição aos raios ultravioleta (UV) é responsável por grande parte das neoplasias de pele, como melanoma. Sendo assim, os cânceres de pele são comuns em países que possuem altas incidências de raios UV e em pessoas que possuem pele clara. A exposição crônica aos raios UV está relacionada a tumores epiteliais e o melanoma foi associado à exposição aos raios solares na infância (TIERNEY *et al.* 2004; LOPES, 2013).

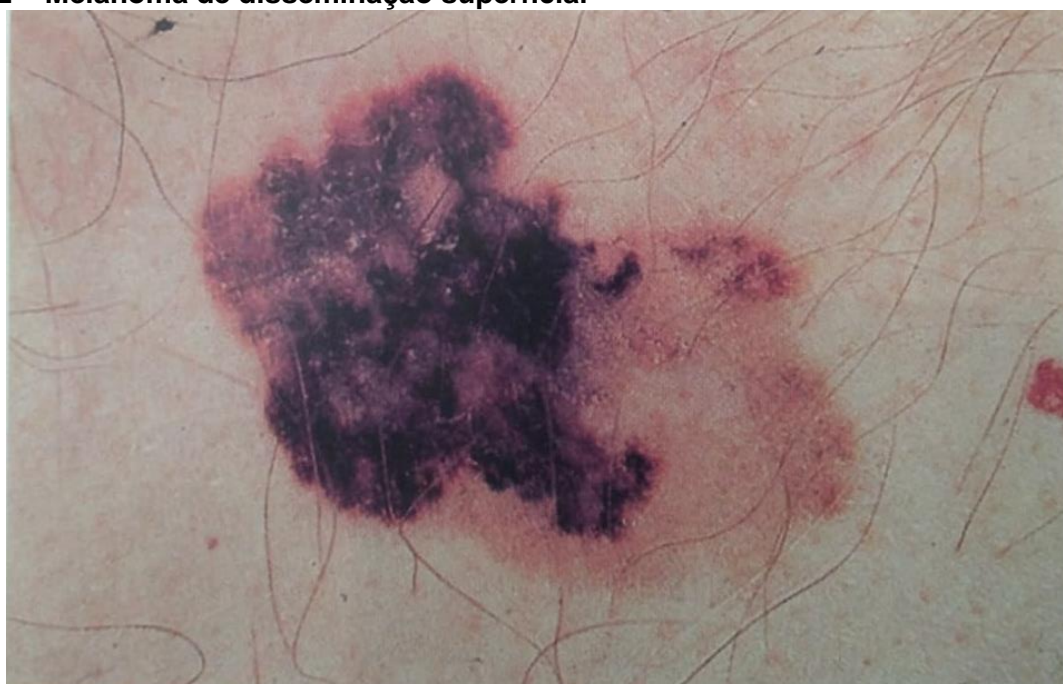
Os efeitos da radiação solar ultravioleta são absorvidos pelo Ácido Desoxirribonucleico (DNA), provocando malignidade devido às mutações que são causadas, seja pela estimulação de fatores de crescimento e reduzindo a imunidade da pele, ou promovendo EROS que irão causar danos ao DNA, induzindo à célula a apoptose (MARTINS *et al.*, 2009).

Utilizar roupas adequadas, óculos de sol, chapéus e se expor pouco ao sol nas horas de maior intensidade da raios UV, tendo uma maior atenção com crianças e adolescentes, são as melhores formas de prevenção (SPENCE; JOHNSTON, 2001).

Além do fator de risco ambiental, que contribui para o desenvolvimento do melanoma, existe também a genética: indivíduos com histórico familiar de melanoma possuem um maior risco de desenvolver a doença em uma idade mais jovem, com uma maior incidência de múltiplos melanomas (SPENCE; JOHNSTON, 2001). Existem cinco subtipos celulares de melanoma mais comuns, e são eles: de disseminação superficial, melanoma nodular, lentigo maligno, lentiginoso acral e melanoma uveal.

O melanoma de disseminação superficial, como mostra a figura 2, é o mais comum, ocorrendo em 70% dos casos. Geralmente surge em um nevo preexistente, e é mais associado com nevo displásico ou amelanótico. Atinge em sua maioria indivíduos na idade adulta, por volta dos 50 anos. Em homens, acomete a face, pescoço e tronco, já nas mulheres, ocorre nos membros inferiores. O nevo acometido possui uma margem irregular, a superfície é caracterizada por áreas escuras com variação de cor, podendo ser rugoso ou ulcerado (SPENCE; JOHNSTON, 2001; MARTINS *et al.*, 2009).

Figura 2 – Melanoma de disseminação superficial



Fonte: (SPENCE; JOHNSTON, 2001).

O melanoma maligno nodular (figura 3) é mais agressivo que o de disseminação superficial, e compreende cerca de 10 a 15% dos casos de melanoma. Surge na pele normal e possui um crescimento rápido, caracterizado por uma coloração azul/preta, elevado, ou em forma de cúpula. Pode aparecer colado na pele, 5% são amelanóticos e podem invadir a derme (SPENCE; JOHNSTON, 2001; MARTINS *et al.*, 2009).

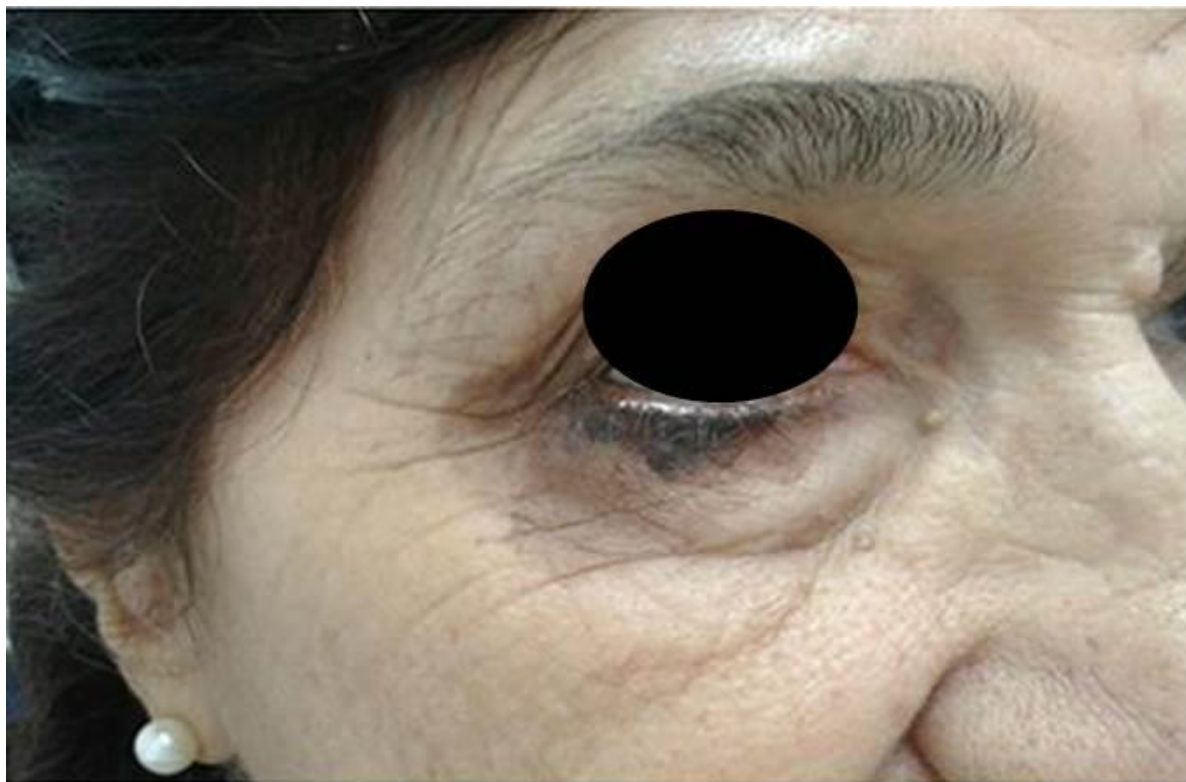
Figura 3 – Melanoma nodular



Fonte: (SPENCE; JOHNSTON, 2001).

O melanoma lentigo maligno é mais comum em idosos, com idade por volta dos 70 anos, e compreende 10% dos casos de melanoma. É observado na pele acometida pelo sol e origina-se em um lentigo maligno, o que antecede o melanoma lentigo maligno. As lesões geralmente são grandes, planas e com formato irregular, como mostra a figura 4. A cor varia entre vários tons de marrom e desenvolvem-se durante décadas (SPENCE; JOHNSTON, 2001; MARTINS *et al.*, 2009).

Figura 4 – Melanoma Lentigo Maligno



Fonte: Modificado de (GOMES *et al.*, 2017).

Melanoma lentiginoso acral (figura 5) acomete palma das mãos e dos pés e as regiões subungueais. Constitui 3 a 5% dos casos, e ocorre com mais frequência na população de pele negra, asiáticos e hispânicos. Geralmente são grandes, por volta de 3cm ou mais, possuem um aspecto parecido com o melanoma lentigo maligno, porém são muito mais agressivos e de crescimento rápido, podendo ulcerar. O melanoma pode-se originar em locais como mucosa oral, esôfago, ânus, vagina e conjuntiva, possuem aparência similar ao melanoma lentiginoso acral, sendo chamados de melanoma lentiginoso mucoso (MARTINS *et al.*, 2009).

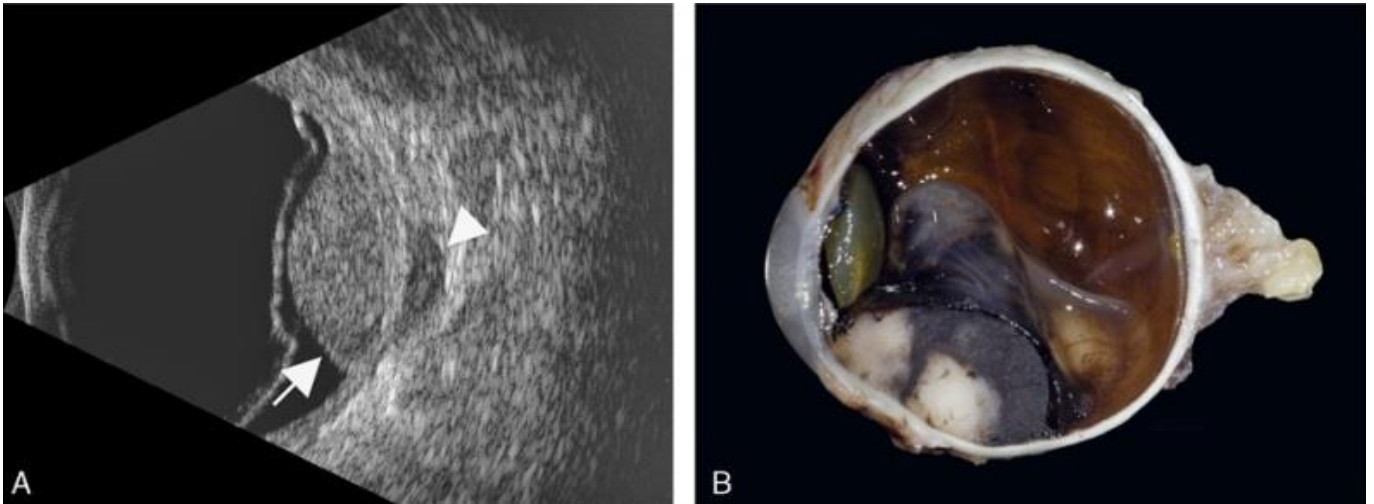
Figura 5 – Melanoma lentiginoso acral



Fonte: (ROLDÁN; LOPERA; SUAZA, 2008).

O melanoma Uveal (figura 7) é um câncer incomum e representa cerca de 3% dos melanomas. Sua etiologia ainda é desconhecida, mas são conhecidos alguns fatores de risco como indivíduos com pele clara, ruivos ou loiros e com a cor da íris azul ou clara, presença de nevos uveais e nevos displásicos e melanocitose oculodérmica. Embora a exposição aos raios UV tenha sido sugerida como fator de risco, seu papel ainda não foi totalmente esclarecido, um estudo mostrou que as taxas de melanoma uveal não aumentaram nas últimas décadas, ao contrário do melanoma cutâneo que sabe-se que a exposição ao sol desempenha um importante papel (SINGH; BERGMAN; SEREGARD, 2005; EAGLE JUNIOR, 2012).

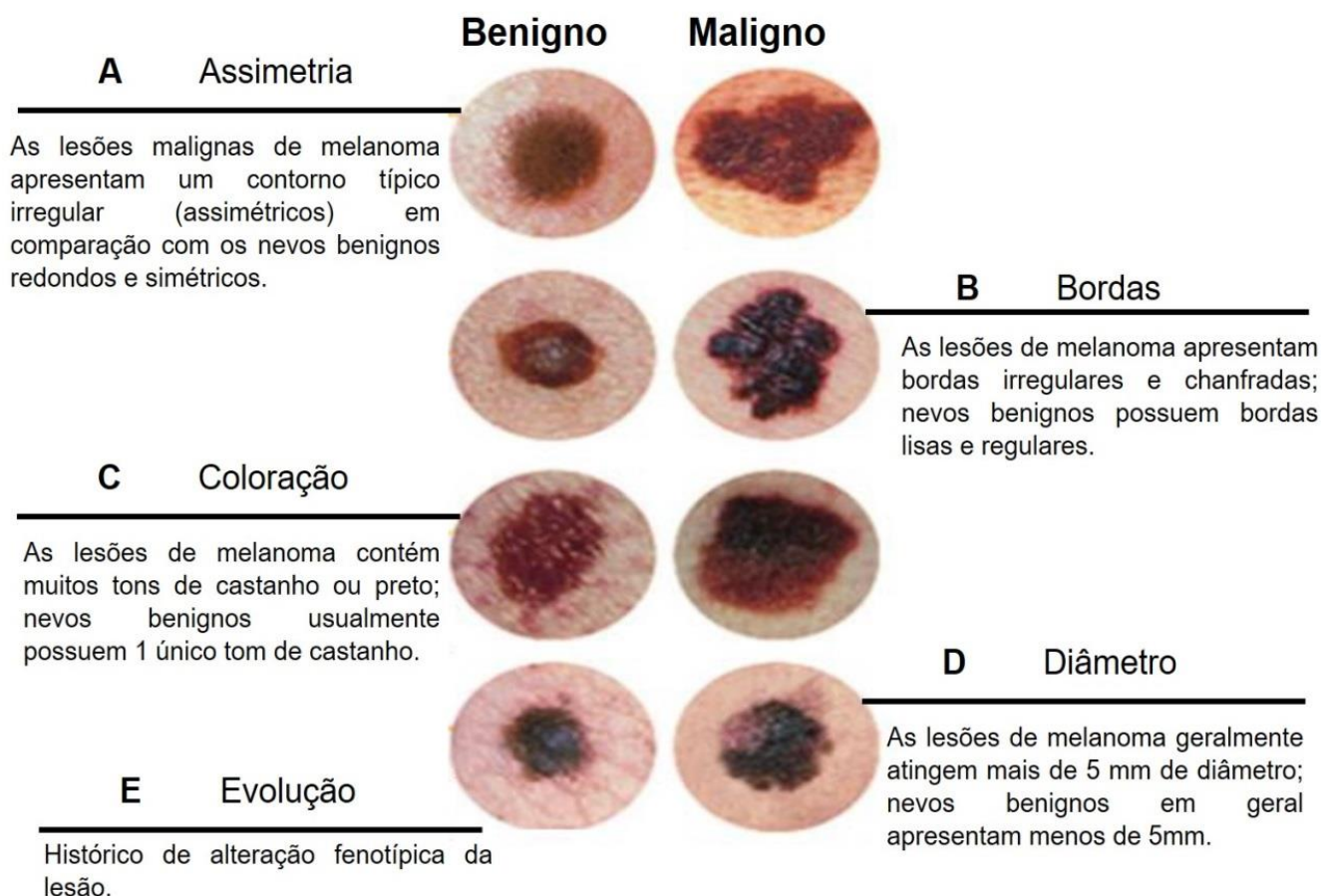
Figura 6 – Melanoma uveal: ultrassom (a). Fotografia macroscópica (b)



Fonte: (SCHOENFIELD, 2014).

O diagnóstico precoce é essencial, e o melanoma pode ser identificado por exame clínico. Qualquer lesão melanocítica que apresentar alteração na cor, tamanho, irregularidade nas bordas, com um diâmetro maior que 6 mm, deve ser examinada. Essas alterações são denominadas sistema ABCDE: **a**ssimetria, **b**ordas irregulares, **c**or, **d**iâmetro e **e**volução das lesões ao decorrer do tempo, como pode ser observado na figura 7 (MARTINS *et al.*, 2009).

Figura 7 – Critério de diagnóstico das lesões de melanoma (ABCDE do Melanoma)



Fonte: Modificado de (CABRAL, 2016).

Lesões duvidosas podem ser observadas por um período de 3 meses, mas a biópsia excisional é a mais segura para confirmar a doença, pois revela detalhes de profundidade, entre outros fatores, como ulceração, regressão e taxa mitótica. A biópsia incisional deve ser evitada, com exceções em lesões muito grandes, já que existe uma dificuldade maior em estabelecer um diagnóstico e altas chances de ter um resultado falso negativo (HAAGEDOORN, 2000; MARTINS *et al.*, 2009).

A abordagem mais indicada para o tratamento do melanoma é a cirurgia. Dependendo do estágio do câncer, pode ser combinada com outras abordagens, como radioterapia, quimioterapia e imunoterapia (INCA, 2018).

A cirurgia deve ser realizada com base na espessura do tumor de Breslow, e é o tratamento mais efetivo de diagnóstico nos estágios iniciais da doença. Também é realizada a pesquisa de linfonodos sentinelas, com o objetivo de avaliar se há disseminação linfática do tumor e se existe a necessidade de linfadenectomias radicais (BRESLOW, 1970; WAINSTEIN; BELFORT, 2004; GARBE *et al.*, 2011).

A radioterapia pode ser empregada em tratamentos paliativos, e até mesmo após a cirurgia, porém o tumor é resistente a esse método de terapia. Sendo assim, existe uma objeção quanto à sua eficácia como tratamento adjuvante, pois já foram evidenciadas limitações nesse tipo de abordagem, apresentando resultados duvidosos quanto aos benefícios dessa forma de terapia (MOLIFE; HANCOCK, 2002; DELANEY; BARTON; JACOB, 2004).

A quimioterapia é um tratamento baseado na infusão de drogas citotóxicas, mas apesar do seu uso difundido, os resultados com essa forma de terapia são decepcionantes na maioria dos casos. A dacarbazina é a droga mais utilizada quando se trata de melanoma metastático e têm sido o medicamento de referência para esta doença há mais de três décadas. A hipótese da poliquimioterapia, combinando a dacarbazina com outros fármacos, apresentaram resultados não muito eficazes, porém, houve melhora em relação à taxa de resposta tumoral, embora sem aumento de sobrevida (CROSBY, 2000; WAINSTEIN; BELFORT, 2004; BAJETTA *et al.*, 2006; PASQUALI *et al.*, 2018).

Atualmente, a maioria dos tratamentos para câncer se baseiam em medicamentos que destroem células que estão no processo de divisão ou que interrompem a divisão celular, causando um impacto negativo na proliferação celular. O Sistema Imune possui uma resposta contra tumor, que pode ser específica para antígenos tumorais, não causando danos às células normais. A imunoterapia é um dos tratamentos mais específicos para tumor que pode ser utilizado, visando potencializar a resposta imunológica aos tumores, por meio da administração de anticorpos ou linfócitos T, específicas para o antígeno tumoral (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2011).

Sendo assim, é essencial continuar a pesquisa para compreender melhor os mecanismos moleculares que regulam a melanogênese, e poder testar diversos agentes terapêuticos. A maneira mais eficaz é utilizando modelos animais específicos.

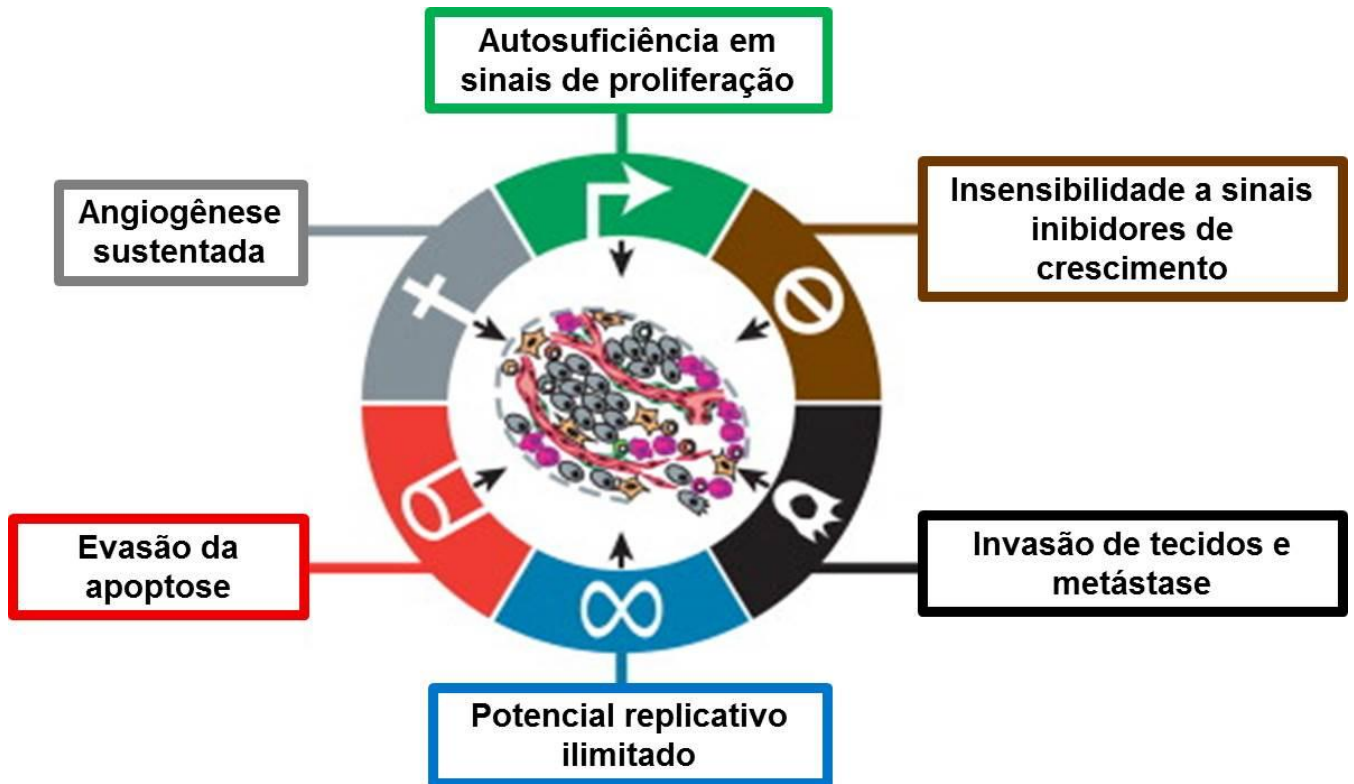
O microambiente tumoral possui diversas características peculiares, além de ser composto por células tumorais, é também composto por células do estroma e, sendo assim, os diferentes modelos animais também devem possuir essas características, permitindo a proliferação celular, invasão, angiogênese e metástases, que também são observadas durante o desenvolvimento do melanoma em humanos (AKTARY; MCMAHON; LARUE, 2017).

Os camundongos são os animais mais utilizados para se estudar a melanogênese *in vivo*; dentre as diversas vantagens estão a fácil manipulação genética e estão sempre disponíveis para o uso. Além disso, o genoma dos camundongos e dos humanos são semelhantes, possuindo órgãos e fisiologia comparáveis. No entanto, ainda existem algumas limitações conhecidas, como a localização dos melanócitos na pele humana, que são encontrados na epiderme, ao passo que, em camundongos, ficam localizados principalmente nos folículos pilosos, além de que, os camundongos não são propensos a desenvolver o melanoma espontaneamente em resposta à luz ultravioleta, que é considerada o carcinógeno mais provável para desenvolvimento do melanoma em humanos (ZAIDI *et al.*, 2011; NOONAN *et al.*, 2012).

4.3 MICROAMBIENTE TUMORAL

HANAHAN e WEINBERG (2000), propuseram seis alterações responsáveis pela transformação de uma célula normal em cancerosa. São elas: autossuficiência em sinais de proliferação, insensibilidade a sinais inibidores de crescimento, evasão da apoptose, potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada e invasão de tecidos e, conseqüentemente, metástase, acreditando que essas alterações sejam compartilhadas pela maioria dos tipos de tumores humanos. Todas as alterações são mostradas na figura 8.

Figura 8 – Características do câncer



Fonte: Modificado de (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

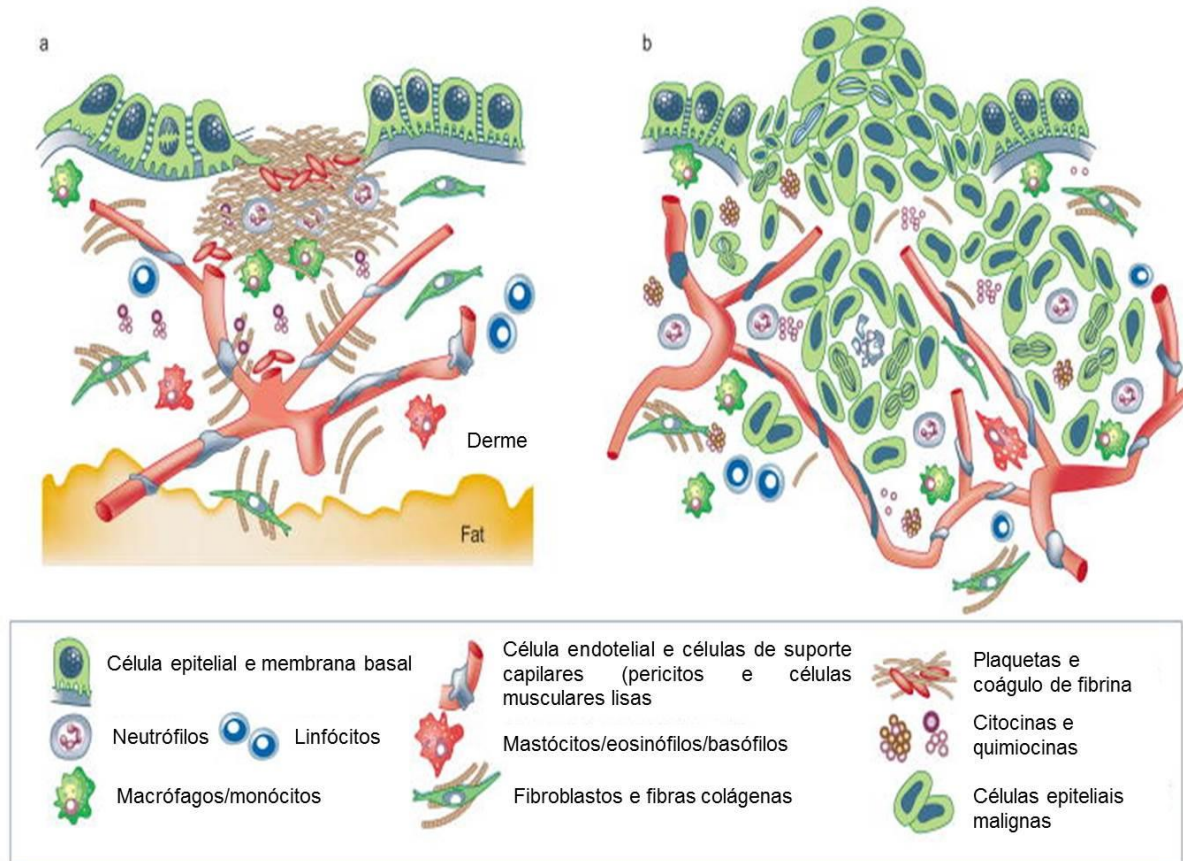
As células não cancerosas participam de diversos processos para contribuir com a progressão tumoral, tais como angiogênese, metástase e proliferação celular. Os macrófagos ajudam a progressão tumoral e metástase, já que, quando inseridos no microambiente tumoral, facilitam a angiogênese e remodelação da matriz, promovendo motilidade das células tumorais, além de estarem envolvidos nos processos de disseminação, invasão das células tumorais e inflamação, o que contribui para a progressão do tumor, além da comunicação direta que os macrófagos possuem com as células tumorais, levando à entrada e à saída de células tumorais para dentro dos vasos sanguíneos (POLLARD, 2004).

Para compreender melhor o papel da inflamação na progressão tumoral, é importante primeiro entender o que é a inflamação e como ela contribui para os processos fisiológicos e patológicos, no caso de cicatrização de feridas e infecção (figura 9).

Quando ocorre uma lesão tecidual, o Sistema Imune induz uma resposta com uma rede multifatorial de sinais químicos, iniciando um processo de reparo no tecido afetado. Essa resposta envolve a ativação e migração de leucócitos, como

neutrófilos, monócitos e eosinófilos, além de mastócitos, que possuem um papel significativo no reparo tecidual (COUSSENS; WERB, 2002).

Figura 9 – Cicatrização de feridas (a). Crescimento tumoral invasivo (b)



Fonte: Modificado de (COUSSENS; WERB, 2002)

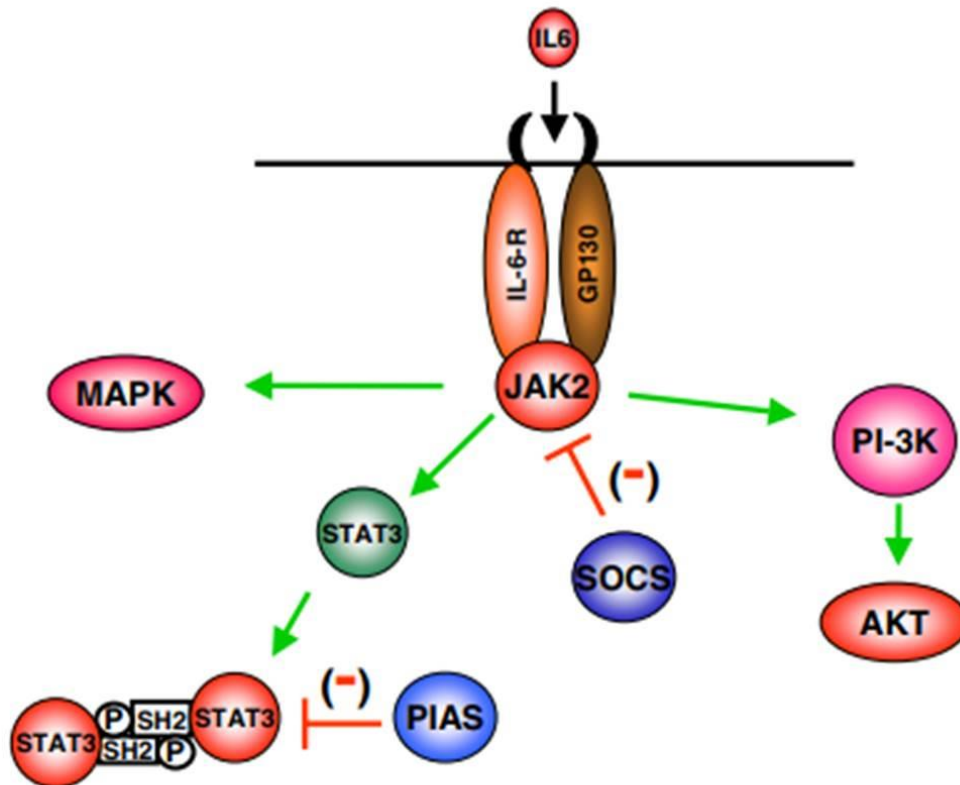
Infecções que levam à inflamação crônica possuem correlação positiva com a progressão tumoral. Exemplos como infecções causadas pela bactéria *Helicobacter pylori* e o câncer de estômago, diversos compostos como amianto e fumaça de cigarro, além de condições genéticas, que levam a um estado de inflamação crônica, como a doença de Crohn. O recrutamento contínuo de células do Sistema Imune, que ocorre nas inflamações crônicas, leva à formação de um microambiente mutagênico com produção de EROS e espécies reativas de nitrogênio (ERNS), que podem levar ao início de alterações malignas nas células epiteliais próximas. Além do mais, este microambiente é rico em citocinas e fatores de crescimento que podem acabar estimulando a proliferação e, conseqüentemente, a sobrevivência dessas células mutadas, que acumulam mais alterações genéticas (COUSSENS;

WERB, 2002; BALKWILL; CHARLES; MANTOVANI, 2005; CONDEELIS; POLLARD, 2006).

As células neoplásicas participam da inflamação crônica e regulam a expressão de citocinas, quimiocinas e outros fatores que atraem as células imunes contribuindo para a progressão tumoral. Além disso, regulam a expressão de moléculas de adesão, quimiocinas e receptores que estão envolvidos com as células inflamatórias, facilitando o processo de metástase, como mostra a figura 9. Existem algumas vias envolvidas no desenvolvimento de tumores, entre elas as vias STAT3 e NF-kB, que desempenham papel fundamental na inflamação causada pelo câncer (VICTORINO; JEREMIAS; ASSUNÇÃO, 2014).

A via STAT 3 (figura 10) é responsável pela proliferação de células e é ativada a partir do transdutor de sinal IKK-kB, que na presença de IL-6 e outros fatores, servem como fator de transcrição para que tenha um aumento da sobrevivência das células tumorais. Já a via NF-kB, quando na presença de ligantes dos *Toll-like*, é ativada, e aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e outros fatores de crescimento, que são encontrados no microambiente tumoral. Esses receptores auxiliam a migração, invasão e angiogênese de células metastáticas de tecidos tumorais quando presentes nas inflamações crônicas (ONUICHIC; CHAMMAS, 2010).

Figura 10 – Via STAT3 ativada pela IL-6



Fonte: Modificado de (HODGE; HURT; FARRAR, 2005). A IL-6 é capaz de ativar três vias proliferativas principais, como mostrado na figura: As vias MAPK e STAT = ativação do fator de transcrição serve para impulsionar a proliferação, assim como as vias PI3K. A ativação de AKT inativa muitos mediadores pró-apoptóticos. Embora isso leve à sobrevivência das células em uma crise relacionada ao sistema imunológico, também pode levar à sobrevivência de células danificadas pelo DNA e assim ao crescimento neoplásico.

As quimiocinas são uma grande família de proteínas, estruturalmente homólogas, que estimulam o movimento dos leucócitos e regulam a migração dos mesmos, do sangue para os tecidos. Sendo determinantes para evolução da resposta inflamatória. São classificadas em quatro famílias, com base na localização e no número dos resíduos de cisteína N-terminais. As duas principais famílias são a das quimiocinas CC e das quimiocinas CXC. Na família CC, os resíduos de cisteína são adjacentes, e na família CXC, os resíduos são separados por um aminoácido. Um pequeno número de quimiocinas possui uma única cisteína, o que caracteriza a família C, ou duas cisteínas, separadas por três aminoácidos, no caso a família CX₃C (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). O perfil de quimiocinas presentes em um determinado sítio inflamatório é importante no desenvolvimento de doenças crônicas.

O fator de necrose tumoral (TNF) controla as células inflamatórias, além de mediar outros processos inflamatórios. O fator de transformação do crescimento beta (TGF- β 1) é uma outra citocina importante na inflamação, ambos influenciam positivamente e negativamente os processos de inflamação e reparo tecidual. Resumidamente, a inflamação normal (como a associada à cicatrização de feridas), geralmente é autolimitada, sendo assim, a desregulação de qualquer processo durante o reparo, pode levar a anormalidades e, em último caso, à patogênese associada a progressão tumoral (COUSSENS; WERB, 2002; MOUSTAKAS *et al.*, 2002).

No microambiente tumoral, as quimiocinas podem ser expressas tanto por células tumorais, como por células do Sistema Imune e células do estroma. Em resposta a quimiocinas específicas, diferentes subgrupos de células imunes migram para o local do tumor e regulam as respostas imunes tumorais.

As quimiocinas são essenciais ao coordenar a migração celular e as interações célula-célula, também podem direcionar as células não imunes, incluindo as células tumorais e células endoteliais para o microambiente tumoral, onde regulam a proliferação de células tumorais, angiogênese e metástases. Sendo assim, as quimiocinas afetam direta e indiretamente a imunidade ao tumor (BALKWILL, 2004; NAGARSHETH; WICHA; ZOU, 2017).

As células tumorais podem adquirir a capacidade de produzir quimiocinas promotoras de crescimento e de expressar receptores de quimiocinas. Como exemplo, verificou-se que, o melanoma expressa uma quantidade de quimiocinas, incluindo CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8, CCL2 e CCL5, que estão relacionadas com o crescimento e a progressão do tumor. As células tumorais também podem superexpressar os receptores de quimiocinas, criando um ciclo de retroalimentação e assim as células malignas se dividem sob a influência de quimiocinas promotoras de crescimento, que estão no microambiente tumoral. Além disso, as células tumorais estimulam as células do estroma a sintetizar e secretar quimiocinas promotoras de crescimento, o que favorece o desenvolvimento do tumor. Células como fibroblastos associados ao câncer e macrófagos também produzem quimiocinas que promovem o crescimento tumoral (PAYNE; CORNELIUS, 2002; CHOW; LUSTER, 2014).

Neutrófilos, e algumas vezes eosinófilos, são as primeiras células a serem recrutadas pelo Sistema Imune em uma resposta inflamatória aguda. Os monócitos,

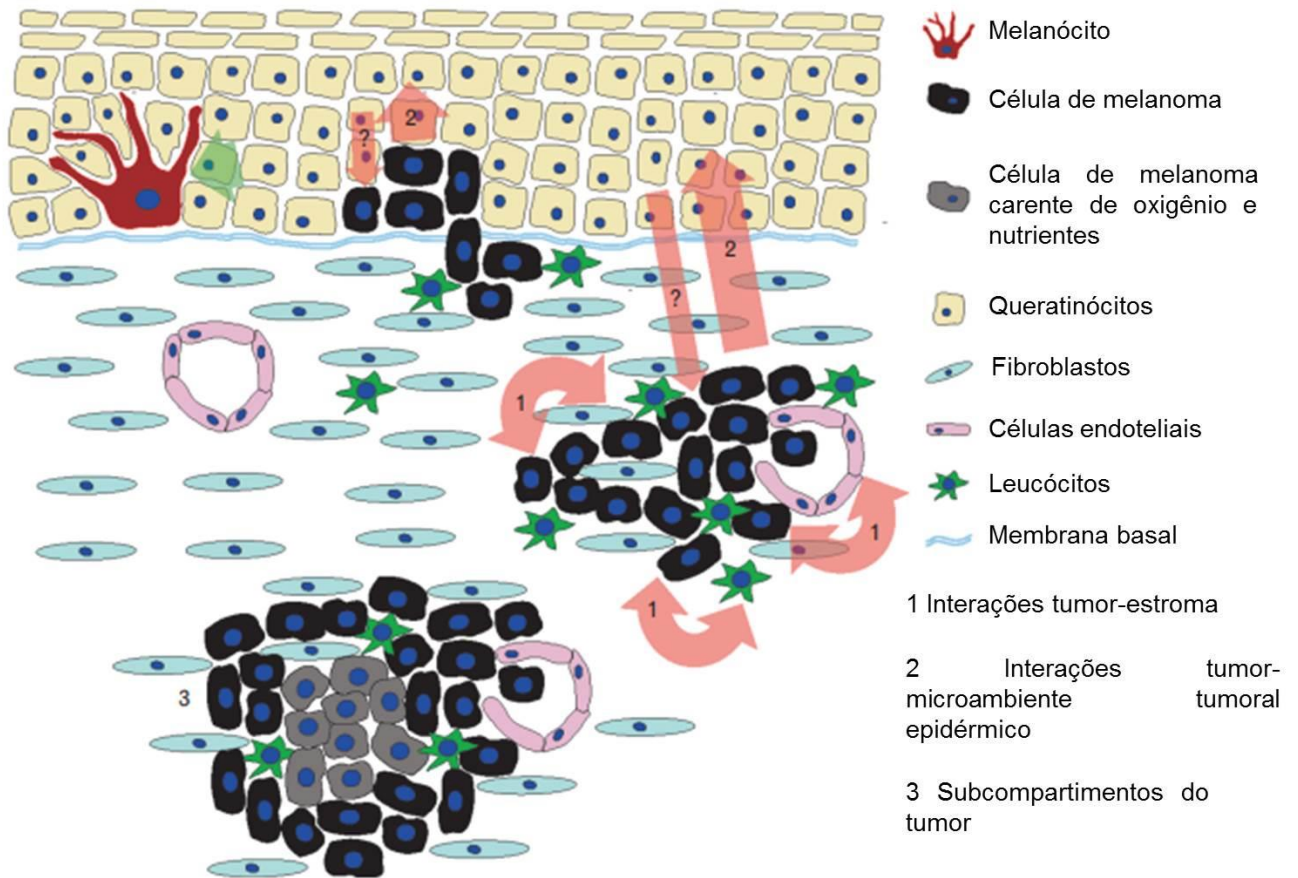
que se diferenciam em macrófagos no tecido, migram para o local da lesão guiados por fatores quimiotáticos. Assim que ativados, os macrófagos tornam-se a principal fonte de fatores de crescimento e citocinas, que afetam as células endoteliais, epiteliais e mesenquimais presentes no microambiente. Os mastócitos também são importantes na inflamação, pois liberam mediadores inflamatórios como histamina, citocinas, proteases complexadas, proteoglicanos sulfatados e mediadores lipídicos (COUSSENS; WERB, 2002).

4.3.1 Microambiente tumoral de melanoma

O estado de uma célula (quiescência, proliferação, diferenciação ou morte celular), em condições normais, é determinado pela homeostase. Na epiderme, esse equilíbrio homeostático é mantido por uma unidade denominada melanina epidérmica, que possui relação simbiótica entre um melanócito e trinta e seis queratinócitos associados. Os melanócitos estão localizados na parte basal da epiderme, e possuem uma relação estável com queratinócitos basais ao longo da vida. Esse equilíbrio é mantido por meio da divisão dos melanócitos e só é alterado durante a formação de um nevo ou no melanoma (HAASS; HERLYN, 2005; BRANDNER; HAASS, 2013).

Em nível molecular, a homeostase é regulada pela comunicação intercelular, que pode ser de origem endócrina e parácrina, por fatores solúveis como hormônios, fatores de crescimento e citocinas, ou pode ser regulada também por contato direto via adesão célula-célula, célula-matriz e intercelular, por meio de junções comunicantes. A desregulação da homeostase causa um desequilíbrio da unidade de melanina epidérmica, desencadeando uma proliferação contínua dos melanócitos, e assim levando ao desenvolvimento do melanoma, como é mostrado na figura 11 (HAASS; HERLYN, 2005).

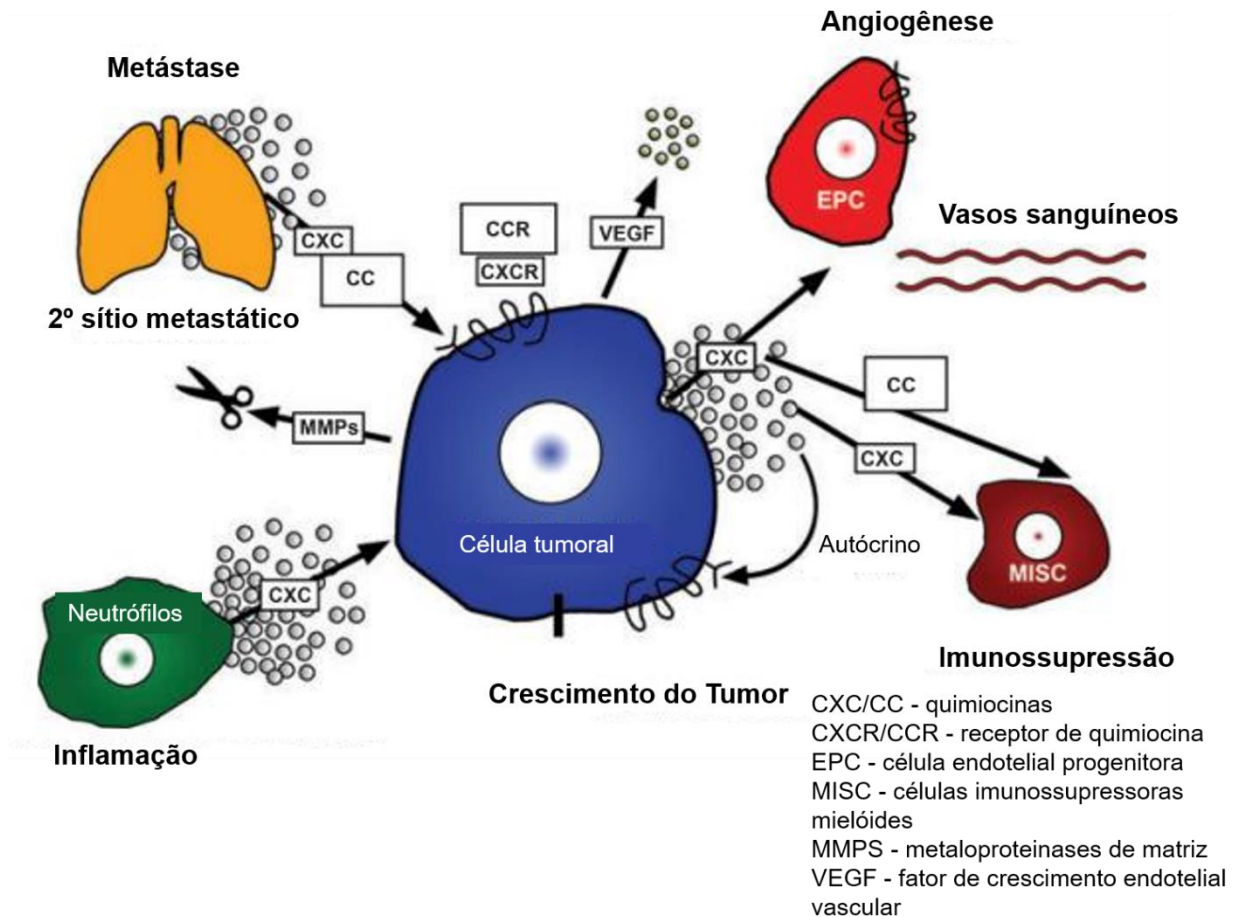
Figura 11– Microambiente tumoral de melanoma



Fonte: Modificado de (BRANDNER; HAASS, 2013).

As células tumorais de melanoma expressam vários tipos de citocinas e quimiocinas, como mostra a figura 12, que agem em outras células favorecendo a progressão e disseminação do tumor. Essas células estimulam a resposta imune ao tumor, seja por induzir a angiogênese tumoral, auxiliar o crescimento do tumor, alterar o microambiente tumoral e facilitar a ocorrência de metástases para órgãos alvos específicos (RICHMOND; YANG; SU, 2009).

Figura 12 – células tumorais de melanoma e quimiocinas



Fonte: Modificado de (RICHMOND; YANG; SU, 2009).

Um estudo realizado com linhagens de células tumorais de melanoma *in vitro*, revelou que estas expressam uma variedade de citocinas e fatores de crescimento, sendo que alguns deles estimulam a angiogênese e o crescimento e invasão tumoral (ELIAS; HASSKAMP; SHARMA, 2010).

As células de melanoma expressam IL-8, IL-6, IL-10, IL-1 α e IL-15, sendo que a IL-8 é considerada um fator angiogênico, expresso em altos níveis em uma grande variedade de cânceres vasculares. IL-6 é uma citocina produzida por linfócitos T, linfócitos B, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e outros tipos de células tumorais. Em pacientes com melanoma foi reportado que se os níveis de IL-6 estiverem elevados, a sobrevida é mais curta. A IL-10 está relacionada com IFN- α e IFN- γ , possuem funções biológicas complexas, atuando como um fator de crescimento do tumor, identificada no soro de pacientes com melanoma metastático. A IL-1 α é uma citocina pró-inflamatória que inicia resposta imune a células

apoptóticas. Sua expressão foi relatada em pacientes com melanoma. A IL-15 é produzida por monócitos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos T CD8+ de memória (DUMMER *et al.*, 1995; FEHNIGER, 2001; ELIAS; HASSKAMP; SHARMA, 2010).

Algumas outras citocinas já foram relatadas sendo expressas por células de melanoma, como osteopontina (OPN), TNF- α , interferon- α (IFN- α) e fator estimulante de colônias de macrófagos (GM-CSF) (ELIAS; HASSKAMP; SHARMA, 2010). A OPN é uma proteína extracelular, expressa por uma variedade de células do Sistema Imune. Possui diversas funções, como adesão celular, quimiotaxia, invasão e regulação da sinalização celular em quase todas as neoplasias malignas. Seu nível sérico se aumentado, está associado a um mau prognóstico. O TNF- α é produzido por macrófagos, monócitos, fibroblastos, queratinócitos, entre outras células. Está envolvido nos processos de inflamação e contribui para a progressão do tumor, por meio de expressão gênica anti-apoptótica. O IFN- α inibe a angiogênese, com efeito antiproliferativo. O GM-CSF possui efeitos antitumorais ao gerar células apresentadoras de antígenos (APCs), que induzem imunidade celular e humoral (HUANG *et al.*, 1994; BALDWIN, 2001; JOHNSTON *et al.*, 2008).

A produção de quimiocinas aumenta progressivamente no microambiente tumoral de melanoma. As principais quimiocinas produzidas pelas células de melanoma são: CXCL1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8, e os principais receptores de quimiocinas que são expressos por células de melanoma são: CXCR2, CXCR4, CCR2 e CCR7 (RAMAN *et al.*, 2007; RICHMOND; YANG; SU, 2009).

O receptor de quimiocina CXCR2 é expresso em células endoteliais e auxilia no recrutamento dessas células para a formação de novos vasos sanguíneos no microambiente tumoral. O CCR2 desempenha um importante papel no recrutamento de macrófagos para o local do tumor; os receptores CCR7 e CXCR4 estão envolvidos na disseminação metastática, sendo que, o CCR7 participa do processo de metástase das células tumorais para órgãos como os linfonodos sentinelas, e o receptor CXCR4 está envolvido com formação de metástases em diversos tipos de tumores, além de melanoma (ZLOTNIK, 2006; RAMAN *et al.*, 2007).

A expressão da CXCL8 está envolvida com o processo das células de melanoma, de formar estruturas semelhantes a tubos que imitam as células endoteliais, garantindo assim, o aporte de nutrientes e oxigênio no interior do tumor, esse processo é denominado de "mimetismo vasculogênico" (MANIOTIS *et al.*,

1999; MOURAD-ZEIDAN *et al.*, 2008). As células do melanoma também produzem quimiocinas angiostáticas, como CXCL9, CXCL10 e CXCL11, que se ligam ao CXCR3 e inibe a angiogênese, além dessas quimiocinas também existe a CXCL4, que interrompe a angiogênese, inibindo o crescimento tumoral de melanoma (STRUYF *et al.*, 2007; KEELEY; MEHRAD; STRIETER, 2008).

Diversas vias pró-metastáticas podem ser ativadas através da produção de citocinas, quimiocinas e seus receptores, por meio de mecanismos autócrinos ou pela interação indireta com outras células, que sustentam o comportamento maligno das células neoplásicas (CARVALHO, 2014).

4.4 INFILTRADO INFLAMATÓRIO E CÂNCER

4.4.1 Sistema Imune

O Sistema Imune possui um papel fundamental na defesa do organismo e, conseqüentemente, na manutenção da homeostase. Atua impedindo a entrada de agentes infecciosos, além de modular processos fisiológicos. Também atua protegendo o organismo contra desordens gênicas, causadas por danos no DNA, tentando corrigir mutações, impedindo que essas progridam e disseminem (MACHADO *et al.*, 2004).

Esse sistema possui mecanismos de defesa que são classificados em inespecíficos e específicos. O organismo apresenta barreiras naturais que são inespecíficas, como a pele, a saliva e o muco presente nas mucosas e no trato respiratório, entre outras que protegem o organismo contra injúrias físicas, químicas ou microbiológicas, as quais são responsáveis pela manutenção fisiológica (MARTINHO; BARROS; BARROS, 2004; LIMA *et al.*, 2012).

Além das barreiras naturais, existem repostas imunes inespecíficas e específicas, que combatem invasores que adentram as mesmas, infectando o organismo. As respostas inespecíficas são aquelas em que não ocorre um combate contra um epítopo, mas sim contra um antígeno. Deste tipo de resposta participam os macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células NK (*Natural killer*) e proteínas do sistema complemento (MARTINHO; BARROS; BARROS, 2004).

O mecanismo de defesa específico envolve particularmente os linfócitos, os quais possuem receptores especializados, capazes de identificar sequências de

aminoácidos, conferindo alto grau de especificidade, conferindo a capacidade de identificar e reagir contra antígenos diversos (MARTINHO; BARROS; BARROS, 2004; LIMA *et al.*, 2012; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

4.4.2 Sistema imune e câncer

Em 1950, Macfarlane e Burnet, propuseram o conceito de vigilância imune do câncer, onde afirmavam que uma das funções do Sistema Imune era de reconhecer e destruir células alteradas antes que se transformassem em tumores, ou de eliminar tumores formados. Atualmente, sabe-se que os Sistemas Imune inato e adaptativo reagem contra diversos tipos de tumores (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os tumores possuem a capacidade de estimular respostas imunes adaptativas, apesar de as células tumorais serem derivadas do hospedeiro. Os tumores são circundados por infiltrado de células mononucleares compostos por linfócitos T, células NK e macrófagos ativados. Essa resposta imune contra tumores apresenta características de imunidade adaptativa, tendo especificidade e memória, além de constituir a função fundamental dos linfócitos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Apesar de existir uma resposta imune contra tumores, ela frequentemente é falha. Existem diversos motivos para que a imunidade antitumoral seja incapaz de erradicar as células alteradas. Dentre esses motivos, e talvez o principal, é que os tumores apresentam mecanismos específicos para evadir da resposta imune do hospedeiro, além de as células tumorais serem derivadas das células do hospedeiro e, por esse motivo, assemelham-se às células normais em diversos aspectos, tornando os tumores pouco imunogênicos (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Muitos tumores espontâneos sofrem mutações que reduzem sua capacidade de estimular resposta imune, induzindo a imunidade de forma fraca ou quase imperceptível, além de que, possuem crescimento rápido e a disseminação do tumor acaba superando a capacidade do Sistema Imune de controlar o tumor, já que é necessário eliminar todas as células malignas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

4.4.3 Linfócitos

O Sistema Imune é composto por glóbulos brancos sanguíneos ou leucócitos, sendo que os linfócitos representam cerca de 20-30% dos leucócitos totais em indivíduos saudáveis. Na microscopia ótica, os linfócitos são identificados por uma massa nuclear abundante, homogênea, e que ocupa quase todo o citoplasma da célula; são linhagens celulares derivadas das células-tronco linfóides presentes na medula óssea (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011).

Os linfócitos são classificados em grandes granulares e pequenos agranulares, de acordo com algumas características. Os grandes granulares constituem uma pequena porcentagem no sangue circulante e são denominados de células *natural killer* (NK) ou linfócitos não B não T, são células que se originam da mesma linhagem que as linfócitos T, porém as células NK não sofreram processamento tímico; já os linfócitos pequenos agranulares são denominados de linfócitos B e linfócitos T, apresentam morfologia equivalente, o que impede a diferenciação entre eles, o que permite distingui-los é a determinação do imunofenótipo dessas células (TERRA; MAIA, 2010; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011; LIMA *et al.*, 2012; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

4.4.4 Linfócitos T

Os linfócitos T são os mediadores da resposta imune celular, caracterizada pela capacidade de ativar outros tipos celulares, como macrófagos e linfócitos B; surgem na medula óssea e migram para o Timo, local responsável pela sua maturação (LIMA *et al.*, 2012; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os linfócitos T possuem um receptor específico, denominado receptor TCR, que é uma glicoproteína heterodimérica, que permite o reconhecimento de uma grande variedade de antígenos pelos linfócitos T; esse receptor é associado a um complexo de peptídeos, no caso CD3, que é o componente responsável pela ativação do linfócito T quando ocorre a ligação antígeno-receptor. Os linfócitos T reconhecem apenas parte de antígenos específicos, esses antígenos são apresentados aos receptores TCR por células dendríticas ou macrófagos, que estão ligados às moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (HARMELIN *et al.*, 2002; LETTERIO, 2005).

Os genes do MHC codificam proteínas de membrana especializadas e a sua principal função é apresentar partes específicas de antígenos aos linfócitos T, para

que estes o reconheçam. As proteínas do MHC são divididas em dois conjuntos de moléculas, o MHC classe I (MHC-I) e o MHC classe II (MHC-II). As moléculas do MHC-I localizam-se na membrana celular das células nucleadas do organismo, sendo que essa classe reconhece antígenos proteicos exógenos e são reconhecidos por linfócitos T citotóxicos (CD8+). A classe de MHC-II é expressa apenas nas células apresentadoras de antígenos como as células dendríticas, fagócitos mononucleares e linfócitos B, elas ligam-se aos peptídeos derivados de proteínas endocitadas e são reconhecidas pelos linfócitos T auxiliares ou *T-helper* (CD4+) (ROITT, 2014; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os linfócitos T quando ativados, sofrem expansão clonal e se dividem em três subtipos, de acordo com a função que desempenham quando um antígeno é apresentado ao Sistema Imune: linfócitos T auxiliar ou *T-helper* (LTh), linfócitos T citotóxicos (LTc) e linfócitos T supressores (LTs) (HARMELIN *et al.*, 2002).

O LTh, por meio de seu receptor de superfície, CD4, interage com macrófagos ativados ligados aos antígenos, reconhecendo epítopos do antígeno apresentado, além disso, essas células possuem função reguladora e estimulam a proliferação de LTc, LTs e linfócitos B, que vão se diferenciar em plasmócito (LIMA *et al.*, 2012; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015). Por meio da IL-1, o LTh ativado sofre expansão clonal se diferenciando em dois subtipos: LTh1 e LTh2, que secretam diferentes interleucinas, cada uma com uma função específica, sendo que LTh1 produz a IL-2 e INF- γ , que estão relacionados com a resposta imunitária celular; já o LTh 2 produz as interleucinas 4, 5, 6 e 10, sendo que a 4 e a 10 estão relacionadas com a resposta imune humoral (HSIAO *et al.*, 2004).

O LTc possui receptor de membrana do tipo CD8, que tem como principal função o reconhecimento de células que expressam o MHC-I, que promove a lise celular destruindo a membrana (HSIAO *et al.*, 2002).

O LTs possui os receptores de superfície CD3 e CD8, porém não possui seu mecanismo de ação totalmente elucidado, mas sabe-se que existe a função de modular a resposta imunitária por meio da inibição. Esses linfócitos agem inativando os LTc e LTh limitando a sua ação no organismo; os LTh ativam os LTs e assim controlam os LTh, impedindo que estes tenham uma exacerbação da resposta imune. Os LTs também participam da tolerância imunológica, mecanismo no qual o Sistema Imune utiliza para impedir que os leucócitos ataquem as próprias células do hospedeiro (MARTINHO; BARROS; BARROS, 2004).

As células encontradas no microambiente tumoral de melanoma produzem quimiocinas, que favorecem o recrutamento de linfócitos TCD8 e células NKT para o local de desenvolvimento do tumor; sabe-se que a principal função dessas células é a de eliminar células alteradas, sendo assim, a presença delas no microambiente tumoral pode favorecer uma resposta antitumoral adequada (WETZEL *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2009).

Foi evidenciado que os linfócitos T CD4+ desempenham diversos papéis na resposta antitumoral, pois são células auxiliaadoras que participam da ativação e da polarização de outras células; os linfócitos T CD4+ do perfil Th1 participam na ativação clássica de macrófagos, favorecendo a resposta antitumoral, já os linfócitos T CD4+ do perfil Th2 exercem papéis pró-tumorais, pois auxiliam na ativação alternativa dos macrófagos (QUAIL; JOYCE, 2013).

Além disso, os linfócitos T CD4+ também podem realizar funções citotóxicas, eliminando as células tumorais após serem reconhecidas via MHC de classe II, de antígenos tumorais expressos nessas células (HAABETH *et al.*, 2014).

4.4.5 Linfócitos B

Os linfócitos B são as células responsáveis pela produção de anticorpos; os linfócitos imaturos são formados no tecido hematopoiético e a sua maturação ocorre no próprio tecido medular, formando os linfócitos B. Após a maturação, essas células migram e são armazenadas principalmente no baço (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Os linfócitos B possuem apenas um receptor para proteínas, o receptor da célula B ou sítio BCR. Esse receptor é uma imunoglobulina de superfície, possuindo um domínio constante e um domínio variável, o que permite a formação de diferentes tipos de receptores BCR. Esses podem se ligar a diversos antígenos, sendo que cada receptor BCR formado é específico para um antígeno (AGEMATSU *et al.*, 2000). Quando ocorre essa exposição de um determinado antígeno ao receptor, o linfócito B é ativado e se diferencia em outros tipos celulares, como plasmócitos e linfócitos B de memória. Os plasmócitos são responsáveis por sintetizar e secretar imunoglobulinas (ou anticorpos), que vão atuar contra antígenos específicos -no caso o antígeno que levou a ativação dos linfócitos B- e assim

desempenham um papel importante na regulação da resposta imune humoral (DOGAN *et al.*, 2009; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015;)

Os linfócitos B são conhecidos por serem mediadores da imunidade tumoral, apesar dos mecanismos serem controversos ou não totalmente elucidados; já foi evidenciado que em modelo de melanoma murino, os linfócitos B aumentam a infiltração de LTc, assim como a produção de citocinas no microambiente, o que acaba favorecendo a imunidade tumoral contra este tipo de células tumorais (KOBAYASHI *et al.*, 2014).

Além de participar da imunidade humoral, os linfócitos B possuem diversas funções, incluindo apresentação de antígenos e ativação de linfócitos T. Sabe-se que certas subpopulações de linfócitos B possuem propriedades reguladoras importantes e estão envolvidas em condições imunológicas como autoimunidade e malignidade (LAMPROPOULOU *et al.*, 2010).

Os linfócitos B no microambiente tumoral de melanoma secretam quantidades significativas de IL-10, que regula de forma negativa a resposta imunológica ao tumor, pois promove a polarização de macrófagos para um perfil imunossupressor (INOUE *et al.*, 2006; KOBAYASHI *et al.*, 2014).

Outro tipo de linfócitos B também são estudados no modelo de melanoma murino, são conhecidos como linfócitos B-1, e são distintos dos linfócitos B convencionais, chamados de B-2. Possuem uma capacidade auto renovadora e são encontrados principalmente na cavidade pleural, peritoneal e em menores quantidades no baço. Representam a linha de defesa contra infecções sistêmicas por vírus e bactérias e são importantes para o equilíbrio homeostático do organismo. Os linfócitos B-1 secretam uma quantidade considerável de IL-10, o que foi verificado que modula a atividade fagocítica de macrófagos *in vitro* e, a apresentação de antígenos na presença de IL-10 induz a tolerância ou diferenciação de linfócitos T em células supressoras, indicando um possível papel imunomodulador dessa população celular (DUAN; MOREL, 2006; MESQUITA JÚNIOR *et al.*, 2010).

Foi visto que os linfócitos B-1 podem promover a polarização de macrófagos para o perfil M-2, que auxilia na promoção de respostas pró-tumorais. Além disso, já foi evidenciado o aumento do potencial metastático das células tumorais causadas pelas interações físicas entre linfócitos B-1 e células de melanoma murino B16F10 (PÉREZ *et al.*, 2008; STAQUICINI *et al.*, 2008; WONG *et al.*, 2010).

4.4.6 células NK

As células NK são leucócitos granulares com morfologia característica. Inspeccionam as células do hospedeiro em busca de sinais anormais de expressão proteica, que podem indicar, por exemplo, que as células abrigam um vírus. As células NK são capazes de destruir as células mutadas e as que estão em processo de transformação maligna em tumores (ROITT, 2014); possuem ação citotóxica por meio da liberação de perforinas, que agem na célula alvo, formando poros na membrana e levando a ativação das proteínas intracelulares, induzindo a células a entrar em apoptose. Produz citocinas como IFN- γ , TNF, IL-10 e IL-3, além de fatores de crescimento e secreção de quimiocinas como CXCL8, que são responsáveis pela migração de células para os tecidos, auxiliando na resposta imunológica (KINOSHITA, 2014).

As células NK participam da imunidade anti-melanoma. Os principais receptores ativadores das células NK são: NKG2D, receptores naturais de citotoxicidade (NCRs), NKp30 e NKp46, além desses, as células NK também expressam CD16, um receptor que induz a citotoxicidade celular dependente de anticorpos; a maioria dos receptores reconhecem diferentes moléculas HLA classe I, sendo assim, as células NK possuem a capacidade de matar as células alvo que perderam ou expressam baixas quantidades de moléculas de HLA de classe I, alteração frequentemente observada em células tumorais, incluindo células de melanoma (MORETTA *et al.*, 2006; FREGNI *et al.*, 2013).

As células NK podem contribuir para a vigilância imunológica, aumentando a secreção de citocinas no microambiente tumoral, ou então, induzindo a maturação de células dendríticas, contribuindo assim para a resposta imune adaptativa. Além da secreção de citocinas, as células NK liberam perforinas e granzinas dentro desse microambiente tumoral na presença de peptídeos antigênicos, que estimulam as células dendríticas e os linfócitos T a agirem contra as células tumorais (WEHNER *et al.*, 2011; MARCUS *et al.*, 2014).

4.4.7 Células fagocitárias e neutrófilos associados ao tumor

Existem dois tipos celulares responsáveis pelo envolvimento e digestão de microrganismos, são os macrófagos e neutrófilos.

Os macrófagos originam-se dos promonócitos da medula óssea, e após a diferenciação em monócitos sanguíneos, se estabelecem nos tecidos na forma de macrófagos adultos, constituindo o sistema fagocítico mononuclear. Os macrófagos estão distribuídos por todos os tecidos conjuntivos, ao redor das membranas basais dos vasos sanguíneos, estão em maiores concentrações nos pulmões, denominados de macrófagos alveolares; no fígado, recebem o nome de células de Kupffer, e nos revestimentos dos sinusóides esplênicos e nos linfonodos, que estão estrategicamente posicionados para filtrar materiais estranhos. Os macrófagos possuem vida longa e apresentam grandes quantidades de retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias.

O neutrófilo polimorfonuclear é o principal leucócito encontrado na corrente sanguínea e origina-se da mesma célula-tronco hematopoiética, precursora dos outros elementos sanguíneos. Os neutrófilos não se dividem, possuem vida curta e apresentam núcleo multilobulado e uma alta quantidade de grânulos, que podem ser de dois tipos: o grânulo azurófilo primário, que se forma precocemente, possui lisossomos, contém mieloperoxidase, diversos efetores antimicrobianos não oxidativos, incluindo defensinas, proteína de aumento da permeabilidade bactericida e catepsina G. O segundo tipo são os grânulos específicos secundários, que são negativos para peroxidase, contém lactoferritina e fosfatase alcalina (ROITT, 2014).

Os neutrófilos são raros no microambiente tumoral, e existem poucos estudos em relação à sua função e carcinogênese, mas segundo estudos recentes sugeriram que neutrófilos intratumorais podem contribuir para o crescimento do tumor, imunossupressão e angiogênese, produzindo fatores angiogênicos, facilitando assim o extravasamento de células tumorais e suprimindo a síntese de citocinas por linfócitos T (TAZZYMAN; LEWIS; MURDOCH, 2009).

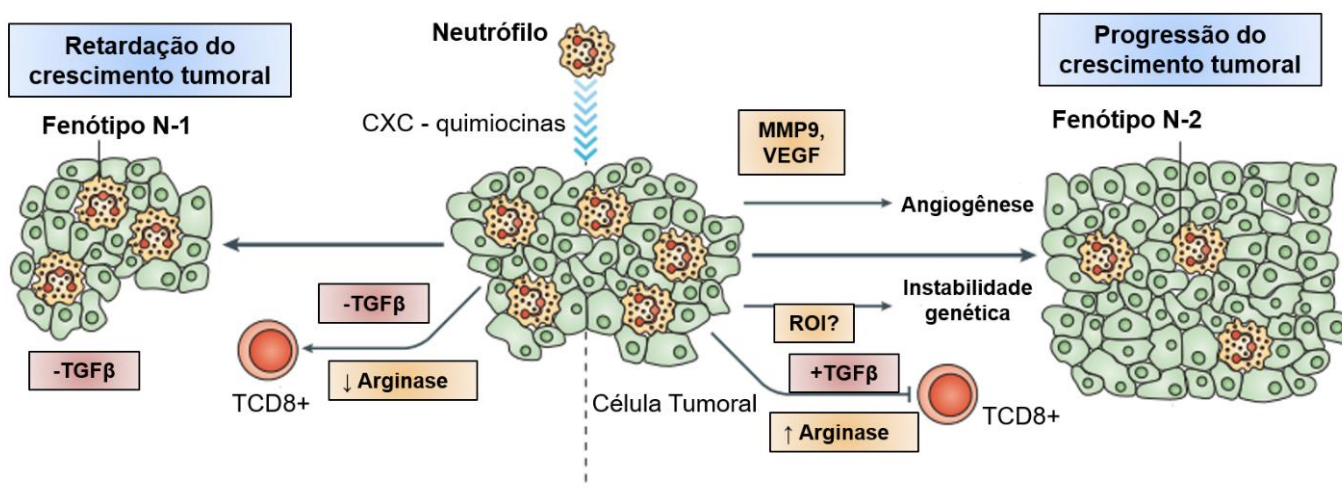
Além dos TAMs, os neutrófilos passaram a ser estudados como novas infiltrações tumorais. Um estudo realizado em camundongos, sugere que os neutrófilos desempenham funções pró e antitumorais em um microambiente tumoral, e que a maioria dos neutrófilos associados ao tumor (TANs) possui um fenótipo pró-tumoral que contribui para o crescimento do tumor e imunossupressão (FRIDLENDER *et al.*, 2009).

Os TANs também possuem diferentes vias de ativação, sugerindo um esquema de classificação semelhante ao TAM, sendo que N1 é considerado um

fenótipo antitumoral e N2 considerado um fenótipo pró-tumoral, como mostra a figura 13 (FRIDLENDER *et al.*, 2009).

O fenótipo polarizado pró-tumoral N-2 é caracterizado por altos níveis de expressão de arginase e são impulsionados pelo TGF β , já a inibição do TGF β promove uma reprogramação de neutrófilos para um fenótipo N-1, que está associado a uma maior atividade citotóxica, por meio da expressão de citocinas e quimiocinas, que estimulam a resposta imune, maior capacidade de gerar peróxidos de hidrogênio, maior expressão de TNF e molécula de adesão intercelular 1 (ICAM1), níveis baixos de arginase e além disso, na presença de neutrófilos N-1, a ativação dos linfócitos TCD8 $^+$ aumenta resultando em uma atividade antitumoral efetiva (FRIDLENDER *et al.*, 2009; MANTOVANI *et al.*, 2011).

Figura 13 – Neutrófilos associados ao tumor



Fonte: Modificado de (MANTOVANI *et al.*, 2011).

Quimiocinas produzidas pelas células tumorais e TAMs, promovem o recrutamento de neutrófilos para o sítio tumoral; os neutrófilos podem promover instabilidade genética por meio da produção de intermediário de oxigênio reativo (ROI) e também estão relacionados com o crescimento do tumor, por meio da produção de fatores angiogênicos e enzimas de degradação da matriz, além de participar na formação de metástases e suprimir a resposta imune antitumoral. Essas observações são consistentes para que exista um fenótipo N2 pró-tumoral, que contribui para o crescimento do tumor (TAZAWA *et al.*, 2003; SHOJAEI *et al.*, 2008; FRIDLENDER *et al.*, 2009; MANTOVANI *et al.*, 2011).

Os neutrófilos inseridos no microambiente tumoral possuem uma forte associação com mau prognóstico em pacientes com melanoma, o que sugere que esses neutrófilos podem possuir uma função pró-tumoral (JENSEN *et al.*, 2011).

Além disso, as células de melanoma expressam CXCL8 e IL-8 que atraem neutrófilos, promovendo a expressão da integrina $\beta 2$ em sua superfície, que interage com ICAM-1, que é expressa pelas células de melanoma, favorecendo o desenvolvimento de metástase pulmonar. Essa interação pode aumentar a quantidade de células de melanoma na circulação, facilitando sua adesão ao endotélio vascular, e permitir o extravasamento e o desenvolvimento de metástases (HUH *et al.*, 2010).

Em modelos de melanoma subcutâneo foi evidenciado que os TANs expressam altos níveis do receptor CXCR4, regulando a angiogênese e o crescimento tumoral por meio da superexpressão dos fatores angiogênicos VEGF e metaloproteinase (MMP-9) (JABLONSKA *et al.*, 2010).

4.5 MACRÓFAGOS ASSOCIADOS AO TUMOR

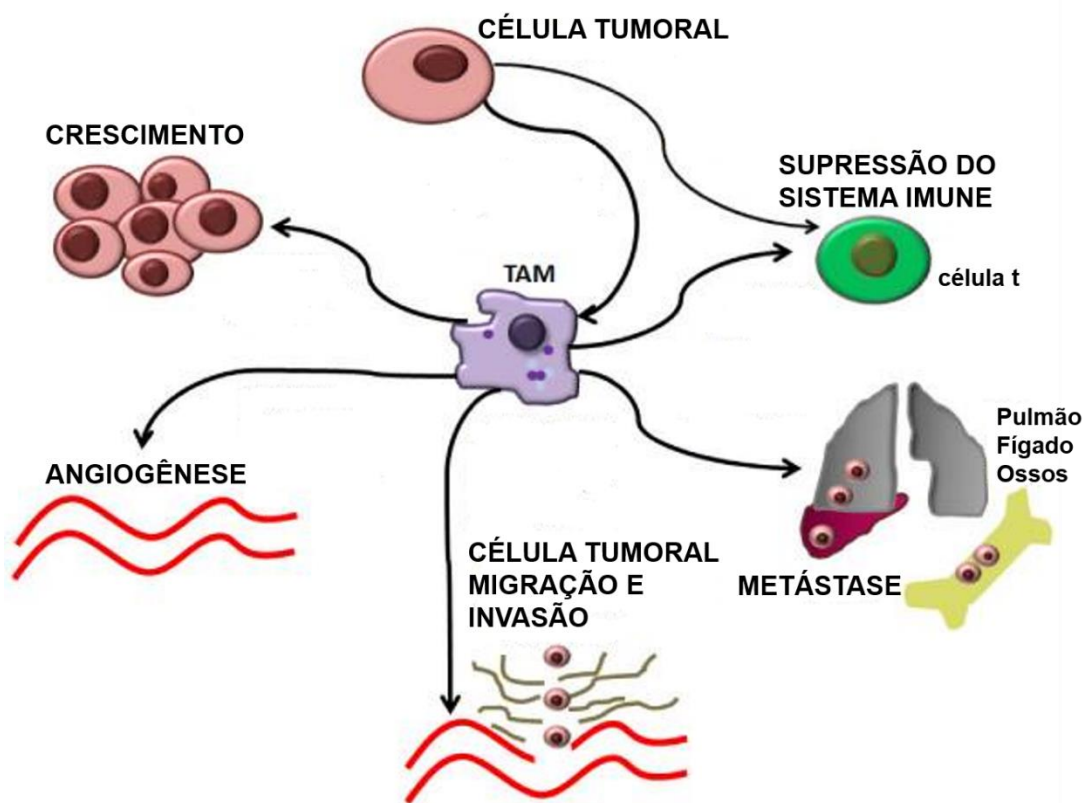
Os macrófagos são células capazes de exibir diferentes atividades funcionais, sendo que algumas são antagônicas: função imunoestimuladora ou imunossupressora e promovendo ou restringindo a inflamação. A heterogeneidade dos macrófagos foi simplificada no conceito de polarização de macrófagos, onde ambos os fenótipos extremos possuem características distintas: macrófagos M1 e M2 (POLLARD, 2004).

As células do estroma e as células tumorais secretam diversos quimiotrativos, que recrutam monócitos da circulação sanguínea, um exemplo, a CCL2, que induz quimiotaxia em monócitos. Uma vez no microambiente tumoral, os monócitos diferenciam-se em macrófagos devido a presença de GM-CSF, que é produzido pelas células tumorais; uma vez diferenciados no microambiente, adquirem propriedades imunossupressoras e pró tumorais, auxiliando na progressão tumoral (ZACHARIAE *et al.*, 1990; ALLAVENA; MANTOVANI, 2012).

As células malignas e as células do microambiente tumoral atuam em conjunto, auxiliando nos processos necessários para o desenvolvimento do tumor. Os macrófagos estão inseridos nesse microambiente e são importantes alvos terapêuticos devido ao seu papel na progressão tumoral (ROGERS *et al.*, 2011).

Os TAMs são os maiores componentes do microambiente tumoral e importantes reguladores da tumorigênese, pois desempenham papéis efetores no desenvolvimento tumoral; essa progressão, como mostra a figura 14, envolve uma série de eventos desde o sítio primário do tumor até a formação de metástases. Alguns dos eventos são: o crescimento de células tumorais, angiogênese, migração, invasão e metástase. A imunossupressão simultânea também auxilia para facilitar esse processo, pois as células tumorais conseguem evitar a detecção pelo Sistema Imune e assim ficam livres na circulação, onde vão para outras regiões do organismo e aderem formando metástases (POLLARD, 2004).

Figura 14 – Papel dos macrófagos associados ao tumor na progressão tumoral

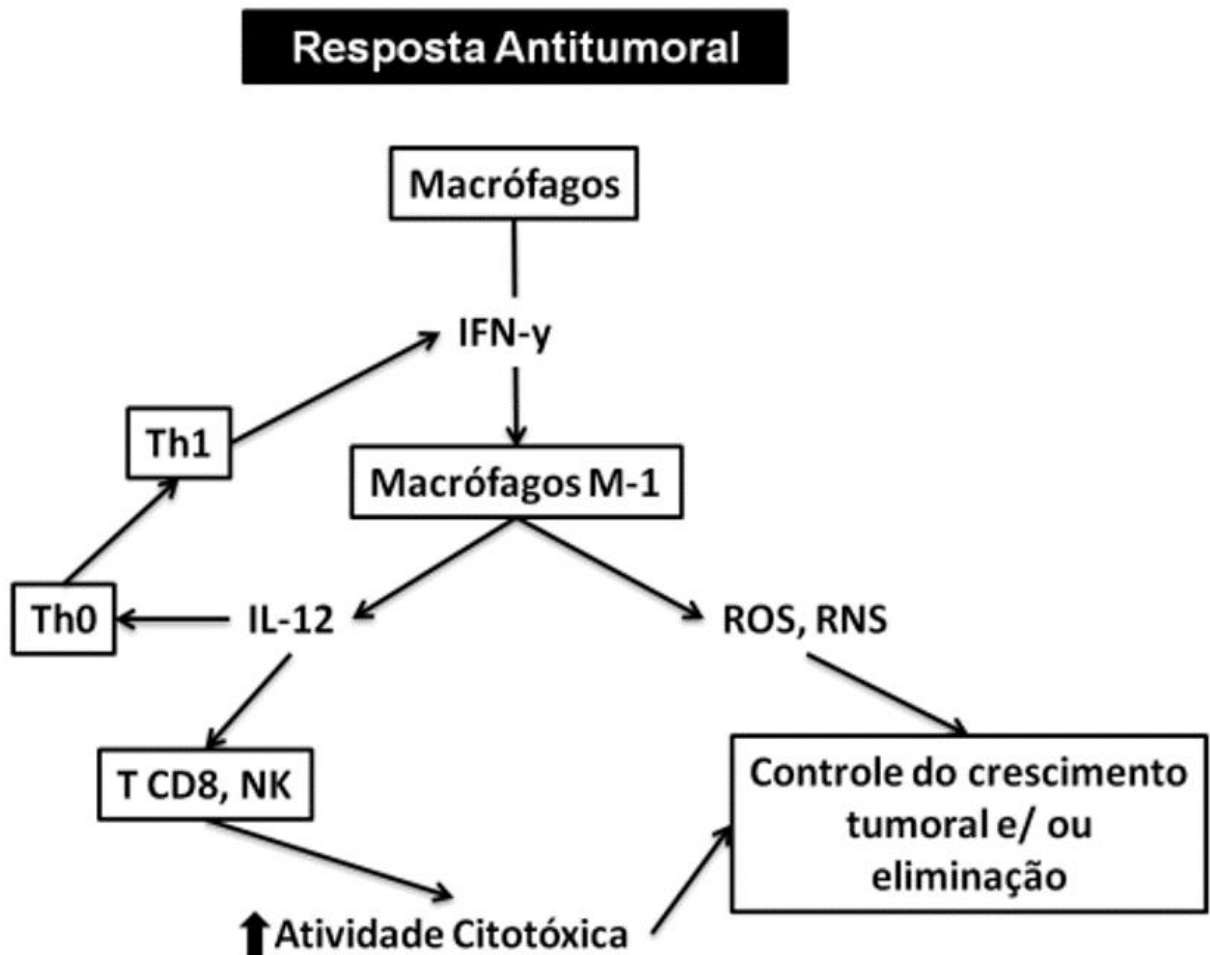


Fonte: Modificado de (ROGERS *et al.*, 2011).

A ativação dos macrófagos M1 se dá de forma clássica (figura 15) por meio da estimulação por produtos bacterianos ou citocinas produzidas por LTh1, promovem a resposta inflamatória e imunológica do hospedeiro, e produzem citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , a IL-6 e IL-12, além de radicais livres e compostos nitrogenados, que possuem função citotóxica sobre as células que estão em transformação neoplásica. Os macrófagos, após entrarem em contato com o

INF- γ no microambiente tumoral, desencadeiam a via clássica e polarizam para o perfil M-1, que secreta grandes quantidades de IL-12, os linfócitos Th1, que por sua vez, produzem INF- γ , mantendo o ciclo de ativação clássica dos macrófagos; a IL-12 atua sobre os linfócitos T CD8 e NK, aumentando o potencial citotóxico destas células, auxiliando no controle e eliminação das células tumorais. Os M-1 ativados produzem ROS e ERNS, que também auxiliam na eliminação das células tumorais (ALLAVENA *et al.*, 2008; ALLAVENA; MANTOVANI, 2012).

Figura 15 – Ativação clássica dos macrófagos



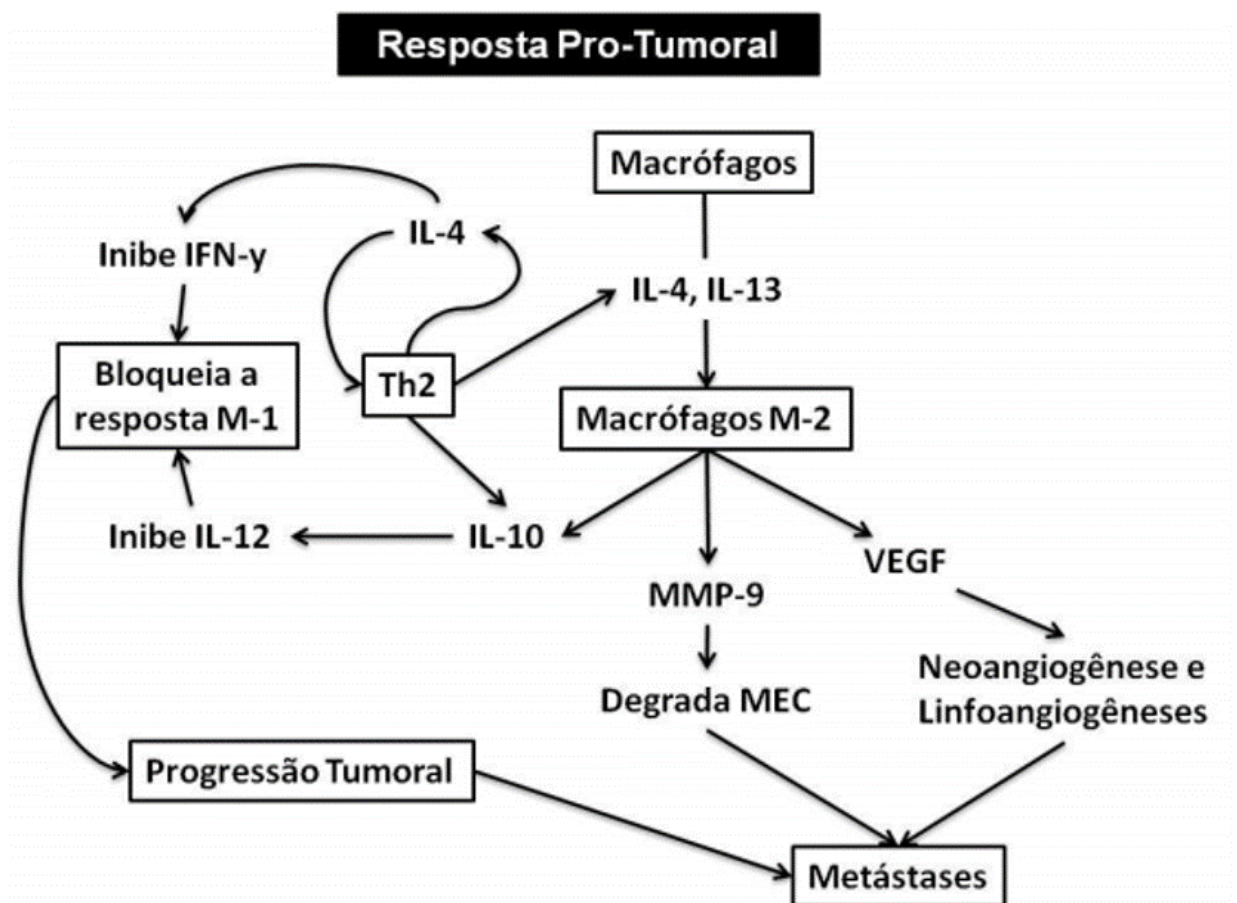
Fonte: (CARVALHO, 2014).

Os macrófagos do tipo M2 (figura 16), quando em um microambiente rico em citocinas específicas de LTh2, são ativados por uma via alternativa. Após entrarem em contato com as IL-4 e IL-13 no microambiente tumoral, passam a secretar

grandes quantidades de IL-10, que inibe a ação da IL-12, bloqueando a resposta Th1 e dando prioridade para a resposta Th2. O que diminui a produção de INF- γ , e promove a progressão tumoral.

Os macrófagos M-2 produzem MMP-9, que degradam a matriz extracelular e VEGF, um fator de crescimento que auxilia na formação de novos vasos sanguíneos no microambiente tumoral e favorece o crescimento do tumor e a formação de metástases (ALLAVENA; MANTOVANI, 2012).

Figura 16 – Ativação alternativa dos macrófagos



Fonte: (CARVALHO, 2014).

Os macrófagos são funcionalmente plásticos, ou seja, podem mudar o seu estado de polarização de M-1 para M-2. Os macrófagos do tipo M-1 estão envolvidos na eliminação de patógenos e nas respostas pró-inflamatórias, e os macrófagos do tipo M-2 promovem a remodelação tecidual e geralmente estão associados à progressão tumoral (BISWAS; MANTOVANI, 2010; QUAIL; JOYCE, 2013).

Sem a angiogênese, os tumores não são capazes de progredir. A troca angiogênica é quando ocorre uma mudança no fenótipo tumoral de angiostático para angiogênico, é um pré-requisito para progressão tumoral e a disseminação metastática. Sabe-se que existe uma ligação entre os TAMs com o aumento da angiogênese (LEWIS; POLLARD, 2006; DIRKX *et al.*, 2006).

Como dito anteriormente, os TAMs quando ativados pela via clássica, se diferenciam em macrófagos tipo 1, que são frequentes no microambiente tumoral durante a fase inicial, eliminam as células tumorais, pois produzem EROS e ERNS, além de secretar quantidades significativas de IL-12, que atuam nas células NK e linfócitos TCD8+, aumentando a citotoxicidade destas células. Para manter a homeostasia, os macrófagos passam a ser ativados pela via alternativa, por meio da IL-4 e IL-13 e assim se diferenciam em macrófagos do tipo 2, esses por sua vez secretam quantidades de IL-10, que regulam negativamente a resposta imunológica aos tumores, pois favorecem um ambiente imunossupressor para o tumor, além de ativar células citotóxicas; também produzem fatores de crescimento, como VEGF, esse fator contribui para progressão tumoral, além de facilitar a formação de metástases, devido a capacidade de auxiliar na produção de novos vasos sanguíneos e linfáticos (ALLAVENA; MANTOVANI, 2012; QUAIL; JOYCE, 2013).

No microambiente tumoral de melanoma, os macrófagos do tipo M-2 são os que aparecem em maior quantidade, assim como na maioria dos tumores sólidos, sendo que a sua presença no tecido neoplásico tem sido associada a um pior prognóstico (MURRAY; WYNN, 2011; THAM *et al.*, 2014).

4.6 PERICITOS

A angiogênese é um processo onde ocorre a formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes. A angiogênese fisiológica ocorre durante o período embrionário e após o nascimento, no período pós-natal. Em adultos, a angiogênese ocorre principalmente no sistema reprodutor feminino, durante o ciclo menstrual e durante a gestação, visando uma vascularização elaborada que atende as demandas nutricionais e funcionais do organismo. Já a angiogênese patológica, ocorre em diversas doenças, tais como: câncer, artrite reumatóide, psoríase, doenças inflamatórias, endometriose e muitas outras. Essa neovascularização é caracterizada por causar efeitos prejudiciais em algumas

doenças e também ajuda na progressão de outras. As características comuns da angiogênese patológica são: permeabilidade vascular anormal, remodelação e maturação vascular defeituosa que acabam promovendo inflamação e hemorragias (CARMELIET; JAIN, 2000; GERHARDT; BETSHOLTZ, 2003).

Pericitos são células de microvasos, como arteríolas, capilares e vênulas, que envolvem as células endoteliais. Estão localizados adjacentes ou sobre as junções celulares endoteliais. Os pericitos estão distribuídos por todos os órgãos do corpo, sendo que se concentram mais nas pernas e nos pés, pois estão relacionados com a pressão hidrostática, protegendo assim a integridade da parede dos microvasos. São componentes essenciais da parede dos microvasos, possuindo função metabólica, sinalizadora e mecânica (SIMS, 2000).

As células murais ou células periendoteliais (pericitos e músculo liso) são células associadas à vasos sanguíneos. Os pericitos são incorporados na membrana basal dos capilares e são caracterizados como células solitárias, possuindo uma única camada de células. São responsáveis pela sinalização intercelular com as células endoteliais e outros componentes presentes na parede do vaso, evitando extravasamento de sangue. Já as células musculares lisas, formam camadas múltiplas ao redor das artérias e veias, auxiliando na contração e tônus vascular (RAZA; FRANKLIN; DUDEK, 2010).

Os pericitos também são caracterizados de acordo com a expressão de algumas moléculas, como actina do músculo liso alfa (α -SMA), desmina, CD146, receptor beta do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGFR β), antígeno glial-2 (NG2). Apesar desses marcadores não serem exclusivos dos pericitos e a sua expressão poder variar de acordo com o tipo de tecido, estágio de maturação e condições patológicas, são importantes para compreender a biologia dessas células (DIAS-FLORES *et al.*, 2009; ARMULIK; GENOVÉ; BETSHOLTZ, 2011).

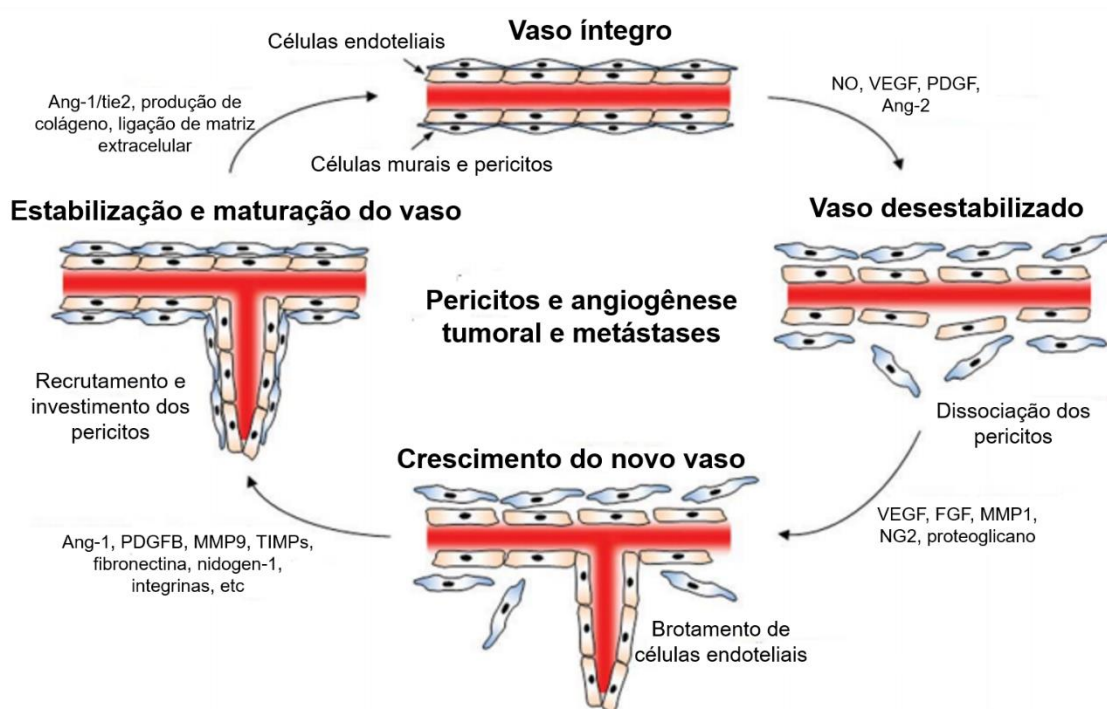
Os pericitos e células semelhantes à pericitos, têm sido indicados como importantes mediadores nos processos associados à fisiopatologia do câncer, incluindo processos como angiogênese tumoral e metástase. Ainda que o papel dos pericitos na fisiopatologia tumoral não seja claro, há evidências que indicam que alterações nas sinalizações entre as células endoteliais e os pericitos contribuam para a angiogênese tumoral e metástase (RAZA; FRANKLIN; DUDEK, 2010).

Na angiogênese tumoral, o surgimento de células endoteliais é seguido por uma migração de pericitos, mas nesse caso, a arquitetura vascular não é completa,

o que leva a várias complicações estruturais e funcionais. Os vasos que estão inseridos no tumor são altamente desorganizados, possuem uma forma irregular com muitas ramificações e com extravasamento, a membrana basal é descontínua ou ausente com características alteradas. Nos vasos tumorais, os pericitos estão fracamente ligados ao endotélio e possuem algumas alterações celulares, como expressão de marcadores típicos e projeções citoplasmáticas que invadem o parênquima tumoral (HELLSTRÖM *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2010; BARLOW *et al.*, 2012).

A figura 17 mostra o papel dos pericitos na angiogênese e metástase tumoral em resposta aos estímulos angiogênicos. A comunicação entre os pericitos e as células endoteliais é interrompida, levando a degradação da membrana basal, vasodilatação e aumento da permeabilidade dos vasos. Diversos fatores conhecidos por desempenhar funções críticas na angiogênese contribuem para a degradação da matriz, migração, proliferação e a formação de tubo. A maturação dos vasos é caracterizada pelo recrutamento dos pericitos e o investimento pericítico funcional do endotélio, bem como outros componentes da matriz extracelular. A associação das células endoteliais e pericitos resulta na manutenção da integridade do vaso e a dissociação das células endoteliais e os pericitos podem promover o intravasamento e extravasamento de células tumorais, por meio do endotélio rompido (RAZA; FRANKLIN; DUDEK, 2010).

Figura 17 – Desenho esquemático do papel dos pericitos na angiogênese e metástase tumoral



Fonte: Modificado de (RAZA; FRANKLIN; DUDEK, 2010).

A ruptura do equilíbrio dos pericitos nos vasos tumorais é crítico, pois pode induzir o crescimento tumoral ou facilitar a disseminação metastática. A regulação mediada pelos pericitos sobre as células tumorais ajudam a manter uma proliferação de células estromais. O fenótipo imunossupressor que é adquirido pelos pericitos dentro do microambiente tumoral também é relevante, uma vez que, essas células podem atuar em sinergia com as células tumorais, inibindo a resposta imune local (RIBEIRO; OKAMOTO, 2015).

O mimetismo vasculogênico do melanoma ocorre através de um mecanismo mediado pelas células tumorais de melanoma, que se faz necessário a sinalização do VEGF com o receptor de fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR) (FRANK *et al.*, 2011). Sabe-se que os pericitos regulam a maturação vascular endotelial por meio da produção de VEGF (EVENSEN *et al.*, 2009); sendo assim, segundo Treviño-villarreal *et al.* (2011), sugeriu-se que os pericitos poderiam ser a fonte de VEGF necessária para a formação dessa vascularização mediada pelas células tumorais de melanoma.

Além da inflamação, a hipóxia é outro fator importante dentro do microambiente tumoral que pode recrutar pericitos. Foi relatado que pericitos

derivados do cérebro geram células neurovasculares que ativam as células da micróglia em condições de hipóxia (ÖZEN *et al.*, 2014).

Quando ocorre hipóxia -deficiência de oxigênio que causa lesão celular por reduzir a respiração oxidativa aeróbica- a produção de VEGF é induzida por meio da ativação de HIF-1 α , que é translocado para o núcleo se ligando a elementos responsivos à hipóxia, localizados na região promotora do gene VEGF, induzindo sua transcrição (POUYSSÉGUR; DAYAN; MAZURE, 2006). Foi relatado uma abundância de células tumorais de melanoma e células do estroma associadas ao tumor, expressando HIF-1 α em seus núcleos (TREVINO-VILLARREAL *et al.*, 2011). Já foi descrito na literatura que o aumento da expressão de HIF-1 α , juntamente com VEGF, está ligado a um mau prognóstico em paciente com melanoma (GIATROMANOLAKI *et al.*, 2003). Além do efeito positivo na tumorigênese do melanoma, o HIF-1 α também está relacionado com o recrutamento de diversos elementos celulares envolvidos na angiogênese, incluindo pericitos (SONG *et al.*, 2009).

Resumindo, os pericitos se associam com as células de melanoma formando novas estruturas vasculares tumorais em um microambiente tumoral com hipóxia, o que sugere que ambos são importantes para o mimetismo vascular do melanoma (TREVINO-VILLARREAL *et al.*, 2011).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O melanoma é o tipo de câncer de pele mais agressivo devido ao seu potencial metastático, e com maior índice de mortalidade. Acomete principalmente a pele, porém pode surgir na mucosa. O diagnóstico precoce é essencial e o melanoma pode ser identificado por exame clínico.

O recrutamento contínuo de células do Sistema Imune, que ocorre nas inflamações crônicas, leva a formação de um microambiente mutagênico com produção de EROS e ERNS, que podem levar ao início de alterações malignas nas células epiteliais próximas. Além do mais, este microambiente é rico em citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que podem acabar estimulando a proliferação celular, angiogênese e metástases, acumulando mais alterações genéticas.

Os linfócitos T CD8 encontrados no melanoma possuem, como principal função, a de eliminar células alteradas, favorecendo uma resposta antitumoral adequada. Os linfócitos T CD4+ do perfil Th1 participam na ativação clássica de macrófagos, favorecendo a resposta antitumoral. Já os linfócitos T CD4+ do perfil Th2 exercem papéis pró-tumorais, auxiliando na ativação alternativa dos macrófagos.

Os linfócitos B, encontrados no microambiente tumoral de melanoma, secretam quantidades significativas de IL-10, que regulam de forma negativa a resposta imunológica ao tumor, promovendo a polarização de macrófagos para um perfil imunossupressor. Os linfócitos B-1 podem promover a polarização de macrófagos para o perfil M-2, que auxiliam na promoção de respostas pró-tumorais.

Os TANs também possuem diferentes vias de ativação, sendo que N1 é considerado um fenótipo antitumoral e N2 considerado um fenótipo pró-tumoral. Sabe-se que os neutrófilos contribuem para o crescimento tumoral, imunossupressão e angiogênese.

Os macrófagos do tipo M-1 estão envolvidos na eliminação de patógenos e nas respostas pró-inflamatórias e são ativados pela via clássica, e os macrófagos do tipo M-2 promovem a remodelação tecidual e geralmente estão associados à progressão tumoral e são ativados pela via alternativa. No melanoma os macrófagos do tipo M-2 são os que aparecem em maior quantidade e são relacionados com um pior prognóstico.

Os pericitos são componentes essenciais da parede dos microvasos, possuindo função metabólica, sinalizadora e mecânica. No microambiente tumoral de melanoma, os pericitos se associam com as células tumorais, formando novas estruturas vasculares em um microambiente com hipóxia, o que sugere que ambos são importantes para o mimetismo vascular do melanoma.

REFERÊNCIAS

ABBAS, Abul. K.; LICHTMAN, Andrew. H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 592 p.

ABBAS, Abul. K.; LICHTMAN, Andrew. H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia celular e molecular**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 552 p.

AGEMATSU, Kazunaga. *et al.* CD27: a memory B-cell marker. **Immunology Today**, v. 21, n. 5, p.204-206, maio 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-5699\(00\)01605-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-5699(00)01605-4). Disponível em: <<https://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S0167>>. Acesso em: 07 ago. 2018.

AKTARY, Zackie.; MCMAHON, Martin.; LARUE, Lionel. Animal Models of Melanoma. **Melanoma**, p.1-31, 12 out. 2017. Springer New York. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-7322-0_32-1. Disponível em: <https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-1-4614-7322-0_32-1>. Acesso em: 07 set. 2018.

ALLAVENA, Paola.; MANTOVANI, Alberto. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 167, n. 2, p.195-205, 11 jan. 2012. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2011.04515.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3278685/>>. Acesso em: 14 jul. 2018

ALLAVENA, Paola. *et al.* The inflammatory micro-environment in tumor progression: The role of tumor-associated macrophages. **Critical Reviews In Oncology/hematology**, v. 66, n. 1, p.1-9, abr. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2007.07.004>. Disponível em: <[https://www.croh-online.com/article/S1040-8428\(07\)00162-X/fulltext](https://www.croh-online.com/article/S1040-8428(07)00162-X/fulltext)>. Acesso em: 12 ago. 2018.

ARMULIK, Annika.; GENOVÉ, Guillem.; BETSHOLTZ, Christer. Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises. **Developmental Cell**, v. 21, n. 2, p.193-215, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.devcel.2011.07.001>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21839917/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

BAGULHO, Ana Correia. **Estudos dos mecanismos moleculares regulados pelo H2O2 nas células endoteliais num contexto tumoral**. 2012. 77 f. Tese (Mestrado) - Curso de Bioquímica Médica, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/9468/1/ulfc105402_tm_Ana_Correia_Bagulho.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2017.

BAJETTA, Emilio. *et al.* Multicenter phase III randomized trial of polychemotherapy (CVD regimen) versus the same chemotherapy (CT) plus subcutaneous interleukin-2 and interferon- α 2b in metastatic melanoma. **Annals Of Oncology**, v. 17, n. 4, p.571-577, 9 fev. 2006. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdl007>. Disponível em: <<https://academic.oup.com/annonc/article/17/4/571/247765>>. Acesso em: 10 jun. 2018.

BALDWIN, Albert. S. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF- κ B. **Journal Of Clinical Investigation**, v. 107, n. 3, p.241-246, 1 fev. 2001. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci11991>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC199203/>>. Acesso em: 09 set. 2018.

BALKWILL, Frances. Cancer and the chemokine network. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 7, p.540-550, jul. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1388>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrc1388>>. Acesso em: 09 set. 2018.

BALKWILL, Frances.; CHARLES, Kellie. A.; MANTOVANI, Alberto. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. **Cancer Cell**, v. 7, n. 3, p.211-217, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2005.02.013>. Disponível em: <[https://www.cell.com/cancer-cell/pdf/S1535-6108\(05\)00066-8.pdf](https://www.cell.com/cancer-cell/pdf/S1535-6108(05)00066-8.pdf)>. Acesso em: 08 jul. 2018.

BARLOW, Keith. D. *et al.* Pericytes on the Tumor Vasculature: Jekyll or Hyde?. **Cancer Microenvironment**, v. 6, n. 1, p.1-17, 31 mar. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12307-012-0102-2>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22467426/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

BISWAS, Subhra. K; MANTOVANI, Alberto. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. **Nature Immunology**, v. 11, n. 10, p.889-896, 20 set. 2010. Springer Nature America, Inc. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1937>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20856220/>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

BRANDNER, Johanna M.; HAASS, Nikolas K.. Melanoma's connections to the tumour microenvironment. **Pathology**, v. 45, n. 5, p.443-452, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1097/pat.0b013e328363b3bd>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23851614>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo. **Bogliolo patologia geral**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 463 p.

BRESLOW, Alexander. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. **Annals Of Surgery**, Washington, v. 172, n. 5, p.902-908, nov. 1970. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1397358/?page=3>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

CABRAL, Priscilla Carvalho. **Desenvolvimento de modelo experimental murino para o estudo da imunobiologia do melanoma**. 2016. 22 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Imunologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

CARMELIET, Peter; JAIN, Rakesh K.. Angiogenesis in cancer and other diseases. **Nature**, v. 407, n. 6801, p.249-257, set. 2000. Springer Nature America, Inc. <http://dx.doi.org/10.1038/35025220>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35025220>>. Acesso em: 21 jul. 2018.

CARVALHO, José Renildo de. **Identificação e caracterização das células do Sistema Imune presentes no microambiente tumoral em modelo de melanoma murino**. 2014. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia Ambiental e Experimental, Universidade Paulista – Unip, São Paulo, 2014. Disponível em: <http://unip.br/presencial/ensino/pos_graduacao/strictosensu/med_veterinaria/download/medvet_joserenildodecarvalho.pdf>. Acesso em: 05 abr. 2018.

CHOW, Melvyn. T.; LUSTER, Andrew. D.. Chemokines in Cancer. **Cancer Immunology Research**, v. 2, n. 12, p.1125-1131, 1 dez. 2014. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/2326-6066.cir-14-0160>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4258879/>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

CONDEELIS, John; POLLARD, Jeffrey W.. Macrophages: Obligate Partners for Tumor Cell Migration, Invasion, and Metastasis. **Cell**, v. 124, n. 2, p.263-266, jan. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2006.01.007>. Disponível em: <[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(06\)00055-9](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(06)00055-9)>. Acesso em: 07 jul. 2018.

CORREA, Mariangela; *et al.* Transient inflammatory response induced by apoptotic cells is an important mediator of melanoma cell engraftment and growth. **Int. J. Cancer**, São Paulo, v. 114, n. 3, p.356-363, 10 abr. 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.20673/full>>. Acesso em: 29 jun. 2017.

COUSSENS, Lisa M.; WERB, Zena. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, n. 6917, p.860-867, 19 dez. 2002. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nature01322>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2803035/>>. Acesso em: 07 jul. 2018.

CROSBY, Tom *et al.* Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma. **Cochrane Database Of Systematic Reviews**, p.1-10, 24 abr. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd001215>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10796759>>. Acesso em: 10 maio 2018.

DELANEY, Geoff; BARTON, Michael; JACOB, Susannah. Estimation of an optimal radiotherapy utilization rate for melanoma. **Cancer**, v. 100, n. 6, p.1293-1301, 15 mar. 2004. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.20092>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15022299>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

DIAS FLORES, L., *et al.* Pericytes. Morphofunction, interactions and pathology in a quiescent and activated mesenchymal cell niche. **Histol Histopathol.**, v. 7, n. 24, p.909-969, jun. 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19475537/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

DIRKX, Anita E. M. *et al.* Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. **Journal Of Leukocyte Biology**, v. 80, n. 6, p.1183-1196, 22 set. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0905495>. Disponível em: <<https://jlb.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1189/jlb.0905495>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

DOGAN, Ismail *et al.* Multiple layers of B cell memory with different effector functions. **Nature Immunology**, v. 10, n. 12, p.1292-1299, 25 out. 2009. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ni.1814>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ni.1814>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

DUAN, Byian; MOREL, Laurence. Role of B-1a cells in autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, v. 5, n. 6, p.403-408, jul. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2005.10.007>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16890894>>. Acesso em: 07 set. 2018.

DUMMER, Wiliiam *et al.* Elevated serum levels of interleukin-10 in patients with metastatic malignant melanoma. **Melanoma Research**, v. 5, n. 1, p.67-68, fev. 1995. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7734958>>. Acesso em: 10 maio 2018.

EAGLE JUNIOR, Ralph C. The pathology of ocular cancer. **Eye**, v. 27, n. 2, p.128-136, 16 nov. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/eye.2012.237>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3574240/>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

ELIAS, Elias G.; HASSKAMP, Joanne H.; SHARMA, Bhuvnesh K. Cytokines and Growth Factors Expressed by Human Cutaneous Melanoma. **Cancers**, v. 2, n. 2, p.794-808, mai. 2010. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers2020794>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3835105/>>. Acesso em: 09 set. 2018.

EVENSEN, Lasse *et al.* Mural Cell Associated VEGF Is Required for Organotypic Vessel Formation. **Plos One**, v. 4, n. 6, p.5798, 4 jun. 2009. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005798>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2688382/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

FEHNIGER, Todd. A. Interleukin 15: biology and relevance to human disease. **Blood**, v. 97, n. 1, p.14-32, 1 jan. 2001. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood.v97.1.14>. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/97/1/14.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 09 set. 2018.

FRANK, Natasha Y. *et al.* VEGFR-1 Expressed by Malignant Melanoma-Initiating Cells Is Required for Tumor Growth. **Cancer Research**, v. 71, n. 4, p.1474-1485, 6 jan. 2011. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-1660>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3083845/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

FREGNI, Giulia *et al.* Phenotypic and Functional Characteristics of Blood Natural Killer Cells from Melanoma Patients at Different Clinical Stages. **Plos One**, v. 8, n. 10, p.76928, 18 out. 2013. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0076928>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3799851/>>. Acesso em: 02 set. 2018.

FRIDLENDER, Zvi G. *et al.* Polarization of Tumor-Associated Neutrophil Phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. **Cancer Cell**, v. 16, n. 3, p.183-194, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2009.06.017>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19732719>>. Acesso em: 09 set. 2018.

GARBE, Claus. *et al.* Systematic Review of Medical Treatment in Melanoma: Current Status and Future Prospects. **The Oncologist**, v. 16, n. 1, p.5-24, 1 jan. 2011. Alphamed Press. <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.2010-0190>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3228046/>>. Acesso em: 17 mar. 2018.

GERHARDT, Holger; BETSHOLTZ, Christer. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis. **Cell And Tissue Research**, v. 314, n. 1, p.15-23, 1 out. 2003. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00441-003-0745-x>. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00441-003-0745-x>>. Acesso em: 21 jul. 2018.

GIATROMANOLAKI, Alexandra. *et al.* Hypoxia-inducible factors 1alpha and 2alpha are related to vascular endothelial growth factor expression and a poorer prognosis in nodular malignant melanomas of the skin. **Melanoma Research**, v. 13, n. 5, p.493-501, out. 2003. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14512791/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

GOMES, Cíntia da Silva *et al.* Lentigo maligna on the face: a challenging conduct. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 76, n. 3, p.161-164, 2017. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0034-7280.20170033>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-72802017000300161>. Acesso em: 17 set. 2018.

HAABETH, Ole Audun Werner *et al.* How Do CD4+ T Cells Detect and Eliminate Tumor Cells That Either Lack or Express MHC Class II Molecules? **Frontiers In Immunology**, v. 5, p.1-13, 15 abr. 2014. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00174>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995058/>>. Acesso em: 09 set. 2018.

HAAGEDOORN, E. Milly. L. **Oncologia Básica para Profissionais de Saúde**. São Paulo: Associação Paulista de Medicina, 2000. 401 p.

HAASS, Nikolas K.; HERLYN, Meenhard. Normal Human Melanocyte Homeostasis as a Paradigm for Understanding Melanoma. **Journal Of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 10, n. 2, p.153-163, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1087-0024.2005.200407.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16358819>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert. The Hallmarks of Cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p.57-70, jan. 2000. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9). Disponível em: <<http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092->

8674(00)816839?_returnURL=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867400816839?showall=true>. Acesso em: 29 jun. 2017.

HANAHAH, Douglas; WEINBERG, Robert A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p.646-674, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411001279>>. Acesso em: 17 set. 2018.

HARMELIN, Alon. *et al.* Lack of MHC expression and retention of ultrastructural characteristics by xenograft transmissible venereal tumor cells in SCID mice. **Veterinary Immunology And Immunopathology**, v. 86, n. 3-4, p.245-249, jul. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427\(02\)00036-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427(02)00036-3). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165242702000363?via%3Dihub>>. Acesso em: 04 ago. 2018.

HELLSTRÖM, Mats *et al.* Lack of Pericytes Leads to Endothelial Hyperplasia and Abnormal Vascular Morphogenesis. **Jounal Of Cell Biology**, v. 153, n. 3, p.543-554, abr. 2001. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2190573/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

HODGE, David R.; HURT, Elaine M.; FARRAR, William L. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. **European Journal Of Cancer**, v. 41, n. 16, p.2502-2512, nov. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2005.08.016>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16199153>>. Acesso em: 10 set. 2018.

HSIAO, Ya-wen. *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocyte Secretion of IL-6 Antagonizes Tumor-Derived TGF- 1 and Restores the Lymphokine-Activated Killing Activity. **The Journal Of Immunology**, v. 172, n. 3, p.1508-1514, 20 jan. 2004. The American Association of Immunologists. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.172.3.1508>. Disponível em: <<http://www.jimmunol.org/content/172/3/1508.long>>. Acesso em: 05 ago. 2018.

HSIAO, Ya-wen *et al.* Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. **Veterinary Immunology And Immunopathology**, v. 87, n. 1-2, p.19-27, ago. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427\(02\)00026-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2427(02)00026-0). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052339>>. Acesso em: 10 ago. 2018.

HUANG, Alex. *et al.* Role of bone marrow-derived cells in presenting MHC class I-restricted tumor antigens. **Science**, v. 264, n. 5161, p.961-965, 13 maio 1994.

American Association for the Advancement of Science (AAAS). <http://dx.doi.org/10.1126/science.7513904>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7513904>>. Acesso em: 09 set. 2018.

HUANG, Feng-ju *et al.* Pericyte deficiencies lead to aberrant tumor vascularization in the brain of the NG2 null mouse. **Developmental Biology**, v. 344, n. 2, p.1035-1046, ago. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.06.023>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20599895/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

HUH, Sung. Jin. *et al.* Transiently Entrapped Circulating Tumor Cells Interact with Neutrophils to Facilitate Lung Metastasis Development. **Cancer Research**, v. 70, n. 14, p.6071-6082, 7 jul. 2010. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-09-4442>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2905495/>>. Acesso em: 17 set. 2018.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Câncer. INCA. Portal - Instituto Nacional de Câncer - INCA, 2018. Disponível em: http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_melanoma/definicao+>; Acesso em: 27 junho 2018.

INOUE, Satoshi *et al.* Inhibitory Effects of B Cells on Antitumor Immunity. **Cancer Research**, v. 66, n. 15, p.7741-7747, 1 ago. 2006. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-3766>. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/66/15/7741.long>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

JABLONSKA, Jadwiga *et al.* Neutrophils responsive to endogenous IFN- β regulate tumor angiogenesis and growth in a mouse tumor model. **Journal Of Clinical Investigation**, v. 120, n. 4, p.1151-1164, 1 abr. 2010. American Society for Clinical Investigation. <http://dx.doi.org/10.1172/jci37223>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237412>>. Acesso em: 17 set. 2018.

JENSEN, Trine O. *et al.* Intratumoral neutrophils and plasmacytoid dendritic cells indicate poor prognosis and are associated with pSTAT3 expression in AJCC stage I/II melanoma. **Cancer**, v. 118, n. 9, p.2476-2485, 22 set. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.26511>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21953023>>. Acesso em: 09 set. 2018.

JOHNSTON, Nicholas I. F. *et al.* Osteopontin as a target for cancer therapy. **Frontiers In Bioscience**, v. 13, n. 1, p.4361-4372, maio 2008. Disponível em:

<<https://www.bioscience.org/2008/v13/af/3009/fulltext.php?bframe=2.htm>>. Acesso em: 09 set. 2018.

JOYCE, Johanna A.; POLLARD, Jeffrey W. Microenvironmental regulation of metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 9, n. 4, p.239-252, 12 mar. 2008. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2618>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3251309/>>. Acesso em: 19 nov. 2017.

JUNQUEIRA, Luiz. C.; CARNEIRO, Jose. **Biologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 302 p.

KEELEY, Ellen. C.; MEHRAD, Borna.; STRIETER, Robert. M. Chemokines as Mediators of Neovascularization. **Arteriosclerosis, Thrombosis, And Vascular Biology**, v. 28, n. 11, p.1928-1936, 28 ago. 2008. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1161/atvbaha.108.162925>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18757292/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

KINOSHITA, Denise. Alterações do sistema imunológico relacionadas ao envelhecimento e suas consequências. **Revista da Universidade Ibirapuera**, São Paulo, v. 7, n. 1, p.11-19, jan/jun. 2014. Disponível em: <<http://seer.unib.br/index.php/rev/article/view/11/01-7.pdf>>. Acesso em: 02 set. 2018.

KOBAYASHI, Tadahiro *et al.* B Cells Promote Tumor Immunity against B16F10 Melanoma. **The American Journal Of Pathology**, v. 184, n. 11, p.3120-3129, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.07.003>. Disponível em: <[https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440\(14\)00420-9/fulltext](https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440(14)00420-9/fulltext)>. Acesso em: 19 ago. 2018.

LAMPROPOULOU, Vicky *et al.* Suppressive functions of activated B cells in autoimmune diseases reveal the dual roles of Toll-like receptors in immunity. **Immunological Reviews**, v. 233, n. 1, p.146-161, jan. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2009.00855.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20192998?dopt=Abstract>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

LETTERIO, John J. TGF- β signaling in T cells: roles in lymphoid and epithelial neoplasia. **Oncogene**, v. 24, n. 37, p.5701-5712, ago. 2005. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1208922>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/1208922>>. Acesso em: 04 ago. 2018.

LEWIS, Claire E.; POLLARD, Jeffrey W. Distinct Role of Macrophages in Different Tumor Microenvironments. **Cancer Research**, v. 66, n. 2, p.605-612, 15 jan. 2006. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-4005>. Disponível em: <http://cancerres.aacrjournals.org/content/66/2/605.long>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

LIMA, Caroline Rocha de Oliveira *et al.* RESPOSTA IMUNE E O PAPEL DOS LINFÓCITOS T E B NO MICROAMBIENTE TUMORAL: REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 1, n. 18, p.1-27, jan. 2012. Semestral. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/bitstream/handle/ri/14195/Artigo%20-%20Caroline%20Rocha%20de%20Oliveira%20Lima%20-%202012.pdf?sequence=5&isAllowed=y>>. Acesso em: 21 jul. 2018.

LOPES, Antonio Carlos. **Clínica Médica: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Atheneu, 2013. 6 v. 6912 p.

MACHADO, Paulo R. L. *et al.* Mecanismos de resposta imune às infecções. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 6, p.647-662, nov. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v79n6/a02v79n6.pdf>>. Acesso em: 21 jul. 2018.

MANIOTIS, Andrew J. *et al.* Vascular Channel Formation by Human Melanoma Cells in Vivo and in Vitro: Vasculogenic Mimicry. **The American Journal Of Pathology**, v. 155, n. 3, p.739-752, set. 1999. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)65173-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)65173-5). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10487832/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

MANTOVANI, Alberto *et al.* Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 8, p.519-531, ago. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3024>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21785456>>. Acesso em: 28 set. 2018.

MARCUS, Assaf *et al.* Recognition of Tumors by the Innate Immune System and Natural Killer Cells. **Advances In Immunology**, p.91-128, 2014. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-800267-4.00003-1>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4228931/>>. Acesso em: 08 set. 2018.

MARTINHO, Ana; BARROS, Patrícia; BARROS, Pedro. **A Diversidade de Linfócitos T e a sua Importância na Resposta Imunitária Celular Específica**.

2004. 36 f. Monografia (Especialização) - Curso de Biomedicina, Departamento de Biologia Imunologia, Universidade de Evora, Évora, 2004.

MARTINS, Milton de Arruda. **Clínica médica: volume 3: doenças hematológicas, oncologia, doenças renais e geniturinárias**. Barueri: Manole, 2009. 907p.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo *et al.* Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 5, p.552-580, out. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1590/s0482-50042010000500008>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042010000500008&script=sci_arttext>. Acesso em: 07 set. 2018.

MILLER, Thomas W.; ISENBERG, Jeff S.; ROBERTS, David D. Molecular Regulation of Tumor Angiogenesis and Perfusion via Redox Signaling. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 7, p.3099-3124, 8 jul. 2009. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr8005125>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2801866/>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

MOLIFE, Rhoda.; HANCOCK, Barry. W. Adjuvant therapy of malignant melanoma. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 44, n. 1, p. 81-102, 2002.

MORETTA, Lorenzo *et al.* Surface NK receptors and their ligands on tumor cells. **Seminars In Immunology**, v. 18, n. 3, p.151-158, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2006.03.002>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16730454/>>. Acesso em: 02 set. 2018.

MORIKAWA, Shunichi *et al.* Abnormalities in Pericytes on Blood Vessels and Endothelial Sprouts in Tumors. **The American Journal of Pathology**, v. 160, n. 3, p.985-1000, mar. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64920-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64920-6). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1867175/>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

MOURAD-ZEIDAN, Alexandra A. *et al.* Expression Profiling of Galectin-3-Depleted Melanoma Cells Reveals its Major Role in Melanoma Cell Plasticity and Vasculogenic Mimicry. **The American Journal of Pathology**, v. 173, n. 6, p.1839-1852, dez. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.2353/ajpath.2008.080380>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2626394/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

MOUSTAKAS, Aristidis *et al.* Mechanisms of TGF- β signaling in regulation of cell growth and differentiation. **Immunology Letters**, v. 82, n. 1-2, p.85-91, jun. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2478\(02\)00023-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-2478(02)00023-8). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165247802000238>>. Acesso em: 08 jul. 2018.

MURRAY, Peter J.; WYNN, Thomas A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 11, p.723-737, 14 out. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3073>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3422549/>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

NAGARSHETH, Nisha; WICHA, Max S.; ZOU, Weiping. Chemokines in the cancer microenvironment and their relevance in cancer immunotherapy. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 9, p.559-572, 30 maio 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2017.49>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5731833/>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

NGUYEN, Don X.; MASSAGUÉ, Joan. Genetic determinants of cancer metastasis. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, n. 5, p.341-352, maio 2007. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2101>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrg2101>>. Acesso em: 19 nov. 2017.

NOONAN, Frances P. *et al.* Melanoma induction by ultraviolet A but not ultraviolet B radiation requires melanin pigment. **Nature Communications**, v. 3, n. 1, jan. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms1893>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ncomms1893>>. Acesso em: 07 set. 2018.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Cancer Fact Sheets: GLOBOCAN. **GLOBOCAN**, 2015. Disponível em: <OMS,2015 - http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx>. Acesso em: 10 de mar. 2018.

ONUCHIC, Ana Cláudia; CHAMMAS, Roger. Câncer e o microambiente tumoral. **Revista de Medicina**, v. 89, n. 1, p.21-31, 19 mar. 2010. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v89i1p21-31>. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/46269>>. Acesso em: 16 abr. 2018.

ÖZEN, Ilknur *et al.* Brain pericytes acquire a microglial phenotype after stroke. **Acta Neuropathologica**, v. 128, n. 3, p.381-396, 22 maio 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00401-014-1295-x>. Disponível em:

<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4131168/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

PASQUALI, Sandro *et al.* Systemic treatments for metastatic cutaneous melanoma. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 6 fev. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd011123.pub2>. Disponível em: <<https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD011123.pub2/full>>. Acesso em: 30 set. 2018.

PAYNE, Aimee S.; CORNELIUS, Lynn A. The Role of Chemokines in Melanoma Tumor Growth and Metastasis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 6, p.915-922, jun. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1747.2002.01725.x>. Disponível em: <[https://www.jidonline.org/article/S0022-202X\(15\)41669-0/fulltext](https://www.jidonline.org/article/S0022-202X(15)41669-0/fulltext)>. Acesso em: 26 ago. 2018.

PÉREZ, Elizabeth Cristina *et al.* B-1 lymphocytes increase metastatic behavior of melanoma cells through the extracellular signal-regulated kinase pathway. **Cancer Science**, v. 99, n. 5, p.920-928, maio 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1349-7006.2008.00776.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18312464>>. Acesso em: 07 set. 2018.

POLLARD, Jeffrey W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 1, p.71-78, jan. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1256>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrc1256>>. Acesso em: 16 set. 2018.

POUYSSÉGUR, Jacques; DAYAN, Frédéric; MAZURE, Nathalie M. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. **Nature**, v. 441, n. 7092, p.437-443, maio 2006. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nature04871>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16724055/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

QUAIL, Daniela F; JOYCE, Johanna A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. **Nature Medicine**, v. 19, n. 11, p.1423-1437, nov. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.3394>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3954707/>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

RAMAN, Dayanidhi *et al.* Role of chemokines in tumor growth. **Cancer Letters**, v. 256, n. 2, p.137-165, out. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2007.05.013>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2065851/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

RAZA, Ahmad; FRANKLIN, Michael J.; DUDEK, Arkadiusz Z. Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. **American Journal of Hematology**, v. 85, n. 8, p.593-598, 27 abr. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.21745>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ajh.21745>. Acesso em: 15 jul. 2018.

RIBEIRO, Aline Lopes; OKAMOTO, Oswaldo Keith. Combined Effects of Pericytes in the Tumor Microenvironment. **Stem Cells International**, v. 2015, p.1-8, 2015. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/868475>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4427118/>. Acesso em: 07 set. 2018.

RICHMOND, Ann; YANG, Jinming; SU, Yingjun. The good and the bad of chemokines/chemokine receptors in melanoma. **Pigment Cell & Melanoma Research**, v. 22, n. 2, p.175-186, abr. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1755-148x.2009.00554.x>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2848967/>. Acesso em: 31 ago. 2018.

ROGERS, Thea L *et al.* Tumour macrophages as potential targets of bisphosphonates. **Journal Of Translational Medicine**, v. 9, n. 1, p.177-187, 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1479-5876-9-177>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3215187/>. Acesso em: 12 ago. 2018.

ROITT, Ivan M. **Roitt fundamentos de imunologia**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 552 p.

ROLDÁN, Lina María Colmenares; LOPERA, Margarita Velásquez; SUAZA, Gloria Andrea Vargas. Melanoma lentiginoso acral: una variante de melanoma maligno de especial interés en Colombia. **Iatreia**, v. 21, n. 4, p.386-397, dez. 2008. Disponível em: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/iatreia/article/view/4531/3977>. Acesso em: 17 set. 2018.

SANDRU, Angela *et al.* Survival rates of patients with metastatic malignant melanoma. **Journal of Medicine and Life**, v. 7, n. 4, p.572-576, dez. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4316142/>. Acesso em: 28 jun. 2017.

SCHOENFIELD, Lynn. Uveal Melanoma. **Advances In Anatomic Pathology**, v. 21, n. 2, p.138-143, mar. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1097/pap.000000000000010>. Disponível em:

<https://journals.lww.com/anatomicpathology/Abstract/2014/03000/Uveal_Melanoma__A_Pathologist_s_Perspective_and.7.aspx>. Acesso em: 15 nov. 2018.

SHOJAEI, Fazel. *et al.* Role of Bv8 in neutrophil-dependent angiogenesis in a transgenic model of cancer progression. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 105, n. 7, p.2640-2645, 11 fev. 2008. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0712185105>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18268320/>>. Acesso em: 17 set. 2018.

SIMS, David E. Diversity Within Pericytes. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 27, n. 10, p.842-846, 22 out. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1440-1681.2000.03343.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11022980/>>. Acesso em: 21 jul. 2018.

SINGH, Arun; BERGMAN, Lars; SEREGARD, Stefan. Uveal Melanoma: Epidemiologic Aspects. **Ophthalmology Clinics Of North America**, v. 18, n. 1, p.75-84, mar. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ohc.2004.07.002>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15763193/>>. Acesso em: 15 nov. 2018.

SONG, Na. *et al.* Overexpression of Platelet-Derived Growth Factor-BB Increases Tumor Pericyte Content via Stromal-Derived Factor-1 /CXCR4 Axis. **Cancer Research**, v. 69, n. 15, p.6057-6064, 7 jul. 2009. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-2007>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19584297/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

SPENCE, Roy A. J.; JOHNSTON, Patrick G. **Oncologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 384 p.

STAQUICINI, Fernanda. I. *et al.* A Subset of Host B Lymphocytes Controls Melanoma Metastasis through a Melanoma Cell Adhesion Molecule/MUC18-Dependent Interaction: Evidence from Mice and Humans. **Cancer Research**, v. 68, n. 20, p.8419-8428, 15 out. 2008. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-1242>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18922915/>>. Acesso em: 07 set. 2018.

STRUYF, Sofie. *et al.* Platelet Factor-4 Variant Chemokine CXCL4L1 Inhibits Melanoma and Lung Carcinoma Growth and Metastasis by Preventing Angiogenesis. **Cancer Research**, v. 67, n. 12, p.5940-5948, 15 jun. 2007. American Association for Cancer Research (AACR). <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-4682>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17575164/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

TAZAWA, Hiroshi *et al.* Infiltration of Neutrophils Is Required for Acquisition of Metastatic Phenotype of Benign Murine Fibrosarcoma Cells. **The American Journal of Pathology**, v. 163, n. 6, p.2221-2232, dez. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63580-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63580-8). Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14633597/>>. Acesso em: 17 set. 2018.

TAZZYMAN, Simon; LEWIS, Claire E.; MURDOCH, Craig. Neutrophils: key mediators of tumour angiogenesis. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 90, n. 3, p.222-231, 11 maio 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2613.2009.00641.x>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2697547/>>. Acesso em: 09 set. 2018.

TERRA, Bruno; MAIA, Amanda M.. Leucemia de grandes linfócitos granulares. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, n. 2, p.141-148, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-84842010005000034>. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32n2/aop34010.pdf>>. Acesso em: 29 jul. 2018.

THAM, Muly *et al.* Melanoma-initiating cells exploit M2 macrophage TGF β and arginase pathway for survival and proliferation. **Oncotarget**, v. 5, n. 23, p.12027-12042, 16 set. 2014. Impact Journals, LLC. <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.2482>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4322977/>>. Acesso em: 19 ago. 2018.

TREVIÑO-VILLARREAL, J. Humberto *et al.* Host-Derived Pericytes and Sca-1+ Cells Predominate in the MART-1– Stroma Fraction of Experimentally Induced Melanoma. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 59, n. 12, p.1060-1075, dez. 2011. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1369/0022155411428078>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3283083/>>. Acesso em: 31 ago. 2018.

UPRETI, Meenakshi; JYOTI, Amar; SETHI, Pallavi. Tumor microenvironment and nanotherapeutics. **Transl Cancer Res**, v. 2, n. 4, p.309-319, ago. 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3951160/>>. Acesso em: 10 set. 2018.

VICTORINO, Vanessa Jacob; JEREMIAS, Isabela Casagrande; ASSUNÇÃO, Anne Karine Martins. Immunological processes in cancer: a link between inflammation and immunity. **American Journal of Immunology**, São Paulo, v. 10, n. 2, p.93-106, 1 fev. 2014. Science Publications. <http://dx.doi.org/10.3844/ajisp.2014.93.106>. Disponível em: <<http://thescipub.com/pdf/10.3844/ajisp.2014.93.106>>. Acesso em: 01 set. 2018.

WAHL, Lindi. M.; KLEINMAN, Hynda. K. Tumor-Associated Macrophages as Targets for Cancer Therapy. **Jnci Journal of The National Cancer Institute**, v. 90, n. 21, p.1583-1584, 4 nov. 1998. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/90.21.1583>. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jnci/article/90/21/1583/2519246/Tumor-Associated-Macrophages-as-Targets-for-Cancer>>. Acesso em: 05 jul. 2017.

WAINSTEIN, Alberto J. A.; BELFORT, Francisco A. Conduta para o melanoma cutâneo. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 31, n. 3, p.204-214, jun. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-69912004000300011>. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912004000300011&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 17 mar. 2018.

WEHNER, Rebekka *et al.* The Bidirectional Crosstalk between Human Dendritic Cells and Natural Killer Cells. **Journal of Innate Immunity**, v. 3, n. 3, p.258-263, 2011. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000323923>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21411969>>. Acesso em: 08 set. 2018.

WETZEL, Kristiane *et al.* MCP-3 (CCL7) delivered by parvovirus MVMP reduces tumorigenicity of mouse melanoma cells through activation of T lymphocytes and NK cells. **International Journal of Cancer**, v. 120, n. 6, p.1364-1371, 2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22421>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17154174>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

WONG, Siew-cheng *et al.* Macrophage polarization to a unique phenotype driven by B cells. **European Journal of Immunology**, v. 40, n. 8, p.2296-2307, 12 maio 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.200940288>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20468007>>. Acesso em: 06 set. 2018.

ZACHARIAE, Claus O. C. *et al.* properties of monocyte chemotactic and activating factor (mcaf) purified from a human fibrosarcoma cell line. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 171, n. 6, p.2177-2182, jun. 1990. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2161898>>. Acesso em: 14 jul. 2018.

ZAIDI, M. Raza *et al.* Interferon- γ links ultraviolet radiation to melanomagenesis in mice. **Nature**, v. 469, n. 7331, p.548-553, 19 jan. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/nature09666>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nature09666>>. Acesso em: 07 set. 2018.

ZHANG, Chenyu. *et al.* Transforming Growth Factor-2 Is a Molecular Determinant for Site-Specific Melanoma Metastasis in the Brain. **Cancer Research**, v. 69, n. 3, p.828-835, 20 jan. 2009. American Association for Cancer Research (AACR).

<http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-2588>. Disponível em:
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2633423/>>. Acesso em: 26 ago.
2018.

ZLOTNIK, Albert. Chemokines and cancer. **International Journal of Cancer**, v. 119,
n. 9, p.2026-2029, 2 maio 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22024>. Disponível
em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16671092>>. Acesso em: 31 ago. 2018.