

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

MARIANA DOS SANTOS OLIVEIRA

**Concentração de Ancestrais: testes *in silico*  
de um novo conceito para explicar a  
correlação entre o número de células tronco  
e o risco de câncer em diferentes tecidos.**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para a obtenção do grau de Mestre em Biologia  
Celular e Molecular

Orientador: Prof. Dr. Guido Lenz

Porto Alegre  
2018

## CIP — CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

Oliveira, Mariana dos Santos

Concentração de Ancestrais: testes *in silico* de um novo conceito para explicar a correlação entre o número de células tronco e o risco de câncer em diferentes tecidos. / Mariana dos Santos Oliveira. – Porto Alegre: PPGBCM da UFRGS, 2018.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR–RS, 2018. Orientador: Guido Lenz.

1. Concentração de Ancestrais. 2. Etiologia do Câncer. 3. Evolução Tumoral *in silico*. 4. Bioinformática do Câncer. I. Lenz, Guido. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Prof. Rui Vicente Oppermann

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Jane Fraga Tutikian

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Celso Giannetti Loureiro Chaves

Coordenador do PPGBCM: Rogerio Margis

Vice-Coordenador do PPGBCM: Hugo Verli

*“More research should be directed towards understanding and controlling the evolutionary process in tumours before it reaches the late stage seen in clinical cancer.”*

— PETER NOWELL, 1976

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Guido Lenz, por todo apoio, incentivo e disposição cedidos ao longo deste ano de trabalho no laboratório. Além disso, agradecer por ter acreditado que eu seria capaz de realizar todo este trabalho em um período de tempo tão curto e em meio a tanta corrida; e, claro, que todos os objetivos fossem alcançados.

Aos colegas de laboratório de Sinalização Celular gostaria de agradecer por toda ajuda, companhia e disponibilidade provindos nos momentos complicados e trabalhosos, assim como nos momentos de alegria e confraternização. Com certeza, sem suas presenças os turnos de laboratório não seriam os mesmos.

Aos meus amigos, agradecer por toda a compreensão nos momentos em que estive ausente em função das aulas, trabalhos ou dissertação; além disso, foram essenciais para os momentos em que precisava apenas de uma companhia para descansar.

Por fim, um agradecimento mais que especial a minha família, principalmente minha mãe Maria Clara Oliveira, que me apoiou e sempre acreditou em mim, nunca permitindo que eu desistisse de seguir meu caminho e alcançar meus objetivos. Além de todo o suporte nos momentos complicados, estressantes ou corridos, o que me fez superá-los e chegar hoje nesta defesa de dissertação de mestrado.

## RESUMO

O câncer é caracterizado pelo crescimento anormal de células em consequência ao acúmulo de alterações no DNA. Diferentes tecidos apresentam variadas incidências de tumores. Em 2015, Tomasetti & Vogelstein demonstraram uma forte correlação positiva ( $r = 0.804$ ) entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer em diferentes tecidos, em que tecidos com maior número de divisões de células tronco estão mais susceptíveis aos efeitos estocásticos da replicação do DNA, e, assim, mais propícios a desenvolverem tumores. Assim, esta correlação é justificada pelo número de mutações.

Neste trabalho, propomos e testamos *in silico* um novo conceito para justificar parte desta correlação positiva entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer entre diferentes tecidos, o qual denominamos **concentração de ancestrais (AC)**. Em nossa hipótese, tecidos com alta taxa de proliferação concentram mais seus ancestrais, amplificando as chances de perpetuar células ancestrais mutadas, e, por isso, estão relacionados a maiores riscos de câncer. Assim, tecidos com altos valores de divisão de células tronco apresentam um perfil de alto AC e tecidos com baixo número de divisão de células tronco apresentam um perfil de baixo AC.

Para comprovar nossa hipótese, simulamos a evolução tumoral através do *software* esi-Cancer e aplicamos diferentes valores de proliferação e morte (*CTOR*). Os resultados demonstraram uma correlação positiva de 0.995 entre o valor de *CTOR* e o perfil de AC ( $P = 0.002$ ). Como esperado, demonstramos que maiores *CTORs* estão relacionados a maiores médias de gerações com esiTumors para valores totais de mutações por divisão iguais. Entretanto, esta relação se mantém quando aplicadas valores corrigidos conforme o número de divisões para os diferentes *CTORs*, a fim de o número de mutações totais ser igual. Logo, apenas variações não são suficientes para explicar a incidência observada em diferentes tecidos.

Nossos resultados demonstram que tecidos com maior número de divisões de células tronco apresentam um perfil de alto AC, o qual amplifica as chances de concentrar ancestrais mutados, aumentando as chances de desenvolver tumores. Assim, justificando parte da correlação encontrada por Tomasetti & Vogelstein (2015).

**Palavras-chave:** Concentração de Ancestrais. Etiologia do Câncer. Evolução Tumoral *in silico*. Bioinformática do Câncer.

**Ancestral Concentration: *in silico* test of a new concept to explain the correlation between the number of stem cells and the cancer risk in different tissues.**

**ABSTRACT**

Cancer is characterized by an abnormal replication of somatic cells as a result of DNA alterations. Different types of tissues present differences in cancer incidence. Tomasetti & Vogelstein (2015) have shown that lifetime cancer risk of different tissues presents a strong correlation of 0.804 with the number of stem cells divisions, in which tissues with higher number of stem cells divisions are more susceptible to stochastic effects of DNA replication and thus more likely to develop cancer. Thus, the number of mutations was used to explain this correlation.

In our work, we propose and test *in silico* a new concept to explain this positive correlation, which we denominated **ancestral concentration** (AC). In our hypothesis, a tissue with high proliferation rates concentrates more their ancestral cells and increases the chance of a mutated ancestral to persist; which result in a higher risk of cancer. Tissues with a high number of stem cells divisions presents a high AC profile whereas tissues with a low number of stem cells divisions presents a low AC profile.

To prove our hypothesis, we simulated tumor evolution using esiCancer software and applied different initial rates of proliferation and death (CTOR). We observed a positive correlation of 0.995 between CTOR values and the AC profile ( $P = 0.002$ ). Besides, higher CTOR values are associated to higher mean generations with esiTumors when equal mutation rates are applied. Nevertheless, this association still exist in simulations with mutation rates corrected by total number of divisions, whereas the total mutation rate is similar for different CTORs. This way, modifications of mutations solely are not sufficient to explain the observed cancer risks in different tissues.

Our results showed that tissues with higher number of stem cells divisions present a high AC profile, which rises the probabilities of concentrate mutated ancestral cells, increasing the tumor risk. In this way, justifying partly the correlation that was founded by Tomasetti & Vogelstein (2015).

**Keywords:** Ancestral Concentration, Cancer Etiology, *in silico* Tumor Evolution, Cancer Bioinformatics.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	<i>Ancestral Concentration</i>
ALT	<i>Alternative Lengthening of Telomeres</i>
APB	<i>ALT-associated Promyelocytic leukemia (PML) Bodies</i>
APC	<i>Adenomatous polyposis coli</i>
ATM	<i>Ataxia Telangiectasia Mutated</i>
ATR	<i>Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein</i>
bps	Pares de Base
c-NHEJ	<i>Classic Non-Homologous End Joining</i>
CTOR	<i>cell turnover rate</i>
DSB	<i>Double-Strand Break</i>
FAP	Polipose Adenomatosa Familiar
Hop2	<i>Homologous-pairing protein 2</i>
HPV	<i>Human Papillomavirus</i>
HCV	<i>Hepatitis C Virus</i>
Mnd1	<i>Meiotic nuclear division protein 1</i>
PML	<i>Promyelocytic leukemia</i>
POT1	<i>Protection of telomeres protein 1</i>
Rad51	<i>RAD51 recombinase</i>
RAP1A	<i>Ras-related protein 1-A</i>
TERT	<i>Telomerase Reverse Transcriptase</i>
TERC	<i>Telomerase RNA Component</i>
TIN2	<i>TRF1-interacting protein 2</i>
TPP1	<i>Tripeptidyl-peptidase 1</i>
TRF1	<i>Telomeric Repeat Factor 1</i>
TRF2	<i>Telomeric repeat-binding factor 2</i>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Evolução tumoral.....	13
Figura 1.2	Composição e estrutura dos telômeros .....	14
Figura 1.3	Telomerase e o encurtamento de telômeros.....	15
Figura 1.4	Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo no Brasil .....	17
Figura 1.5	Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2017 por sexo nos Estados Unidos .....	17
Figura 1.6	Efeitos estocásticos da replicação do DNA .....	18
Figura 1.7	Relação entre o número de divisões de células tronco ao longo da vida e o risco de câncer em diferentes tecidos.....	19
Figura 1.8	Fatores extrínsecos no risco do câncer .....	20
Figura 1.9	Correlações entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer em diferentes países.....	21
Figura 1.10	Concentração de Ancestrais.....	23
Figura 1.11	Sobrevivência de mercado .....	24
Figura 3.1	esiCancer <i>software</i> .....	28
Figura 3.2	esiTable .....	29
Figura 4.1	Perfil da Concentração de Ancestrais .....	31
Figura 4.2	Perfil de AC .....	32
Figura 4.3	Porcentagem de ancestrais com descendentes ao longo de gerações .....	32
Figura 4.4	População Total Final .....	33
Figura 4.5	Curvas de Kaplan Meier para diferentes valores de mutação total.....	34
Figura 4.6	Média de gerações com esiTumors.....	35
Figura 4.7	Média de gerações com esiTumors para mutações corrigidas.....	36
Figura 4.8	Relação entre telômeros e concentração de ancestrais .....	37
Figura 4.9	Média de gerações com esiTumors para o máximo de 50 divisões por célula.....	38
Figura 4.10	Variação da média de gerações com esiTumors .....	39
Figura 4.11	Relação entre a frequência de mutação no promotor da TERT e o número de divisões de células tronco .....	40
Figura 4.12	Modificações no perfil da concentração de ancestrais.....	42
Figura 4.13	Representação dos padrões de variação da morte.....	42
Figura 4.14	Perfil da Concentração de Ancestrais em padrões de variação de morte.....	43
Figura 4.15	População total final em padrões de variação de morte.....	44
Figura 4.16	Média de gerações com esiTumors em padrões de variação de morte .....	44
Figura S1	Perfil da Concentração de Ancestrais com 20 mutações .....	52
Figura S2	Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de $\approx 110000$ mutações .....	53
Figura S3	Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de $\approx 600000$ mutações .....	54
Figura S4	Perfil da Concentração de Ancestrais com 20 mutações e máximo de 50 divisões por célula.....	55
Figura S5	Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de $\approx 110000$ mutações e máximo de 50 divisões por célula.....	56
Figura S6	Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de $\approx 600000$ mutações e máximo de 50 divisões por célula.....	57

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1.1 Modelos animais para telomerase e tamanho dos telômeros.....	16
---	----

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Evolução Tumoral</b> .....	<b>11</b>
1.1.1 Variação Genética: Mutações Somáticas .....	11
1.1.2 Célula de Origem .....	12
1.1.3 Arquitetura Clonal .....	12
<b>1.2 Telômeros &amp; Câncer</b> .....	<b>13</b>
1.2.1 Telomerase e o Encurtamento dos Telômeros.....	14
1.2.2 Alongamento Alternativo de Telômeros .....	15
<b>1.3 A Hipótese da Má Sorte</b> .....	<b>16</b>
1.3.1 O Terceiro Fator .....	18
1.3.2 A Contribuição dos Fatores Extrínsecos .....	19
1.3.3 O Terceiro Fator em Escala Mundial .....	20
1.3.4 Conclusões e Implicações da Hipótese da Má Sorte .....	21
<b>1.4 Concentração de Ancestrais</b> .....	<b>22</b>
1.4.1 O Conceito .....	23
1.4.2 Modelo Padrão de Competição Oligopolista .....	24
1.4.3 Perspectivas da Concentração de Ancestrais .....	26
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
<b>2.1 Objetivo Geral</b> .....	<b>27</b>
<b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>27</b>
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	<b>28</b>
<b>3.1 esiCancer: Evolutionary in silico Cancer Simulator</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2 Parâmetros e Cálculos</b> .....	<b>29</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
<b>4.1 Caracterização da Concentração de Ancestrais</b> .....	<b>31</b>
<b>4.2 O Papel da Concentração de Ancestrais</b> .....	<b>34</b>
<b>4.3 Telômeros em diferentes perfis de Concentração de Ancestrais</b> .....	<b>37</b>
<b>4.4 Modificando o Perfil da Concentração de Ancestrais</b> .....	<b>41</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>50</b>
<b>APÊNDICE A — MATERIAL SUPLEMENTAR</b> .....	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer é um conjunto de mais de 100 doenças, as quais podem ser originárias de diferentes tipos celulares e tecidos, e é caracterizado pelo crescimento anormal de células em consequência ao acúmulo de alterações no DNA (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009; VOGELSTEIN et al., 2013). Ou seja, câncer é uma doença do genoma. Atualmente é um dos maiores problemas de saúde pública, sendo a segunda maior causa de morte mundial. Em 2012, estimou-se que surgiram 14.1 milhões de novos casos na população mundial e 8.1 milhões de mortes em consequência da doença (FERLAY et al., 2015). Para o ano de 2017, foram previstos 600 mil novos casos no Brasil <sup>1</sup>.

### 1.1 Evolução Tumoral

Em 1976, Peter Nowell propôs o câncer como um processo evolutivo darwiniano que ocorre em populações de células situadas em microambientes teciduais (NOWELL, 1976). Este desenvolvimento ocorre em diversos passos sequenciais, em que células somáticas acumulam mutações randômicas e são selecionadas conforme o fenótipo adquirido, similar ao processo de seleção natural de Darwin.

#### 1.1.1 Variação Genética: Mutações Somáticas

Mutações encontradas em células tumorais são acumuladas ao longo da vida inteira de pacientes, e podem ser consequentes de fatores externos ou internos (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009; VOGELSTEIN et al., 2013). Aquelas que conferem direta ou indiretamente vantagens proliferativas e de sobrevivência são positivamente selecionadas ao longo do processo evolutivo, e são ditas mutações *driver*. Entretanto, essas mutações podem não ser necessárias em todos os estágios do tumor, sendo vantajosas apenas em determinada etapa do desenvolvimento, como no caso de mutações que modelam o microambiente tumoral. Além disso, essas integram o grupo dos “genes do câncer”.

Mutações que não conferem vantagens direta ou indiretamente, mas estão presentes em células tumorais de pacientes, ou seja, foram neutramente selecionadas, são chamadas mutações *passenger*. A maior parte das alterações pré-neoplásicas se encaixam

---

<sup>1</sup><<http://www2.inca.gov.br/>>

neste grupo, as quais não geram consequências funcionais.

Um terceiro grupo de mutações afeta genes importantes para processos necessários às células, sendo estas desvantajosas para célula tumoral, e, assim, são negativamente selecionadas. Mutações deletérias geralmente não aparecem no genoma tumoral, visto que as mesmas resultam no processo de morte ou senescência. Entretanto, seleções negativas são raras, sendo aproximadamente 99% das mutações toleradas pelas células (MARTIN-CORENA et al., 2017).

### **1.1.2 Célula de Origem**

Tecidos em homeostase mantêm um balanço entre as taxas de proliferação e morte, e, assim, constante a sua população de células. Em situações de danos teciduais, células tronco são induzidas com o objetivo de substituir essas células danificadas. Células tronco são células com capacidades de auto renovação, conseguindo se perpetuar por um extenso período de tempo, e de diferenciação, sendo capazes de gerar células maduras (REYA et al., 2001).

Devido à sua longevidade, células tronco são fortes alvos de transformação, ou seja, há maiores probabilidades de acumular mutações sequenciais e tornarem-se a célula de origem de um tumor. Entretanto, qualquer célula progenitora com habilidades proliferativas e capaz de adquirir a maquinaria de auto renovação é candidata a célula de origem tumoral (REYA et al., 2001; VISVADER, 2011).

### **1.1.3 Arquitetura Clonal**

A evolução clonal clássica ocorre pelo acúmulo de mutações sequenciais concomitantemente a pressões seletivas. Células individuais se dividem e transmitem suas mutações para suas progênes, gerando populações de subclones (Figura 1.1). A cada etapa, essas células e subpopulações competem por recursos e espaço, assim, aquelas com vantagens proliferativas se perpetuam (GREAVES; MALEY, 2012).

Em um tumor primário, populações de subclones se espalham por diversos territórios, as quais apresentam distintos perfis moleculares e fenotípicos, caracterizando a trajetória tumoral como complexa e ramificada. Além disso, o microambiente tumoral apresenta uma interação entre diferentes células tumorais, células normais e células do

sistema imune, podendo estas agir como pressões seletivas (GREAVES; MALEY, 2012).

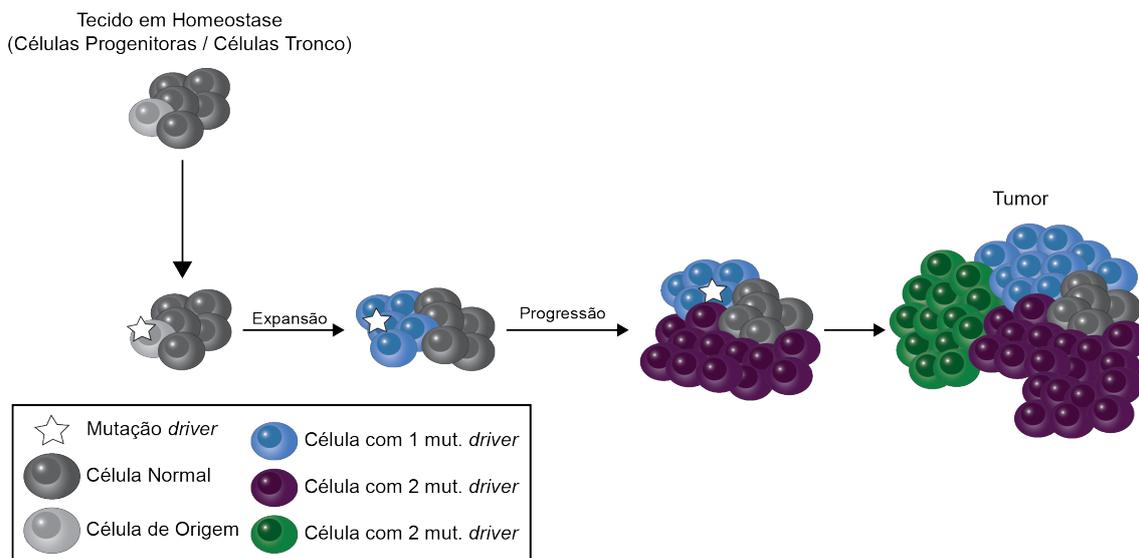


Figura 1.1: **Evolução tumoral.** Células individuais que sofrem mutações *driver* são positivamente selecionadas e são mais favoráveis a proliferar e gerar populações de subclones. O acúmulo de novas mutações *driver* permite que novas subpopulações se formem e se expandam. Em um ambiente tumoral, células tumorais interagem com diferentes subpopulações e com células normais. Diferentes cores representam diferentes subpopulações de células. Fonte do autor.

## 1.2 Telômeros & Câncer

Telômeros são compostos por repetidas sequências TTAGGG dupla fita, terminando em uma sequência de 50-300 nucleotídeos fita simples rica em Guanina, associadas a proteínas específicas (Figura 1.2). Esta sequência terminal é capaz de invadir o DNA telomérico dupla fita e formar uma estrutura secundária de alça (*T-loop*), a qual protege as regiões terminais dos cromossomos (BLASCO, 2005; MACIEJOWSKI; LANGE, 2017). As subunidades TRF1, TRF2, POT1, TIN2, TPP1, e RAP1 formam o complexo que se associa aos telômeros e age de maneira protetora, controlando o comprimento dos telômeros e preservando a estabilidade genômica. TRF2 reprime ativadores do reparo do dano ao DNA dupla fita (DSB) e protege os términos de cromossomos do mecanismo de Junção Terminal Não-Homóloga clássica (c-NHEJ). TRF1 controla o comprimento de telômeros ligando-se ao DNA dupla fita e regulando o acesso da telomerase, além de interagir junto à proteína POT1, a qual se liga ao DNA fita simples (MACIEJOWSKI; LANGE, 2017).

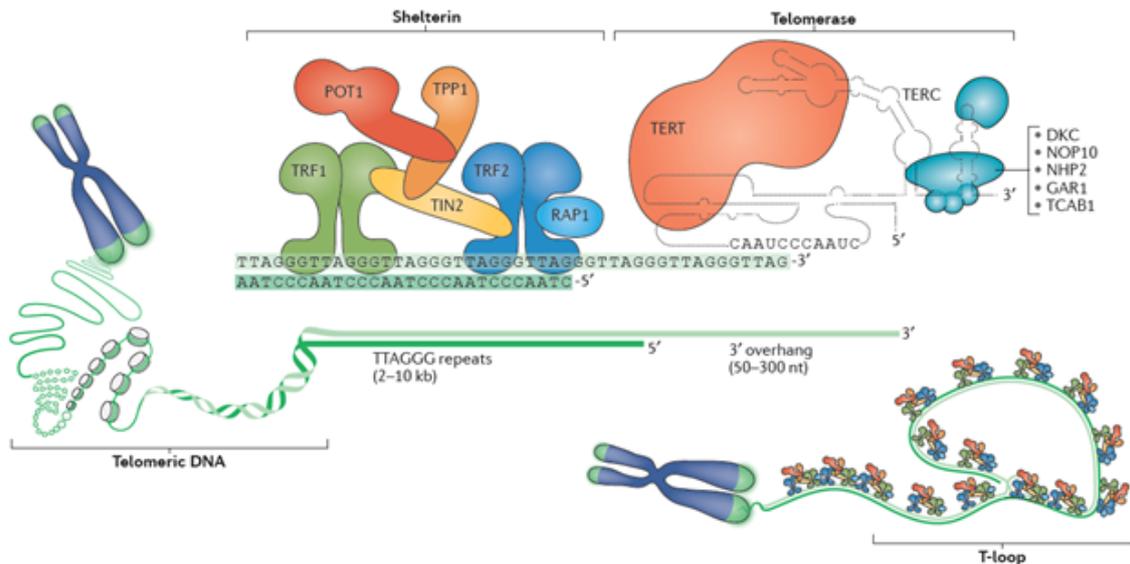


Figura 1.2: **Composição e estrutura dos telômeros.** Retirado de Maciejowski and Lange (2017).

### 1.2.1 Telomerase e o Encurtamento dos Telômeros

A telomerase é uma transcriptase reversa codificada pelo gene TERT, a qual tem a função de manter o comprimento dos telômeros pelo alongamento dos mesmos. Ela reconhece o grupo OH da região 3' terminal e adiciona repetições GGTTAG utilizando uma molécula intrínseca de RNA como modelo, a qual é codificada pelo gene TERC (Figura 1.2). A cada divisão celular ocorre a perda de 50-100bps da região dos telômeros, devido à síntese incompleta do DNA, em que a DNA polimerase não é capaz de sintetizar a região 3' fita simples. Desta maneira, as células sofrem um encurtamento dos telômeros, o qual pode ser reparado pela telomerase; entretanto, células somáticas não apresentam atividade desta devido ao silenciamento do gene TERT.

O contínuo encurtamento leva alguns telômeros a tamanhos críticos e consequente perda da sua função protetora. Desta forma, mecanismos de reparo de dano ao DNA, como os ativadores das quinases ATM e ATR, são acionados e levam à parada do ciclo celular e indução da apoptose e senescência (Figura 1.3). Este processo limita a capacidade proliferativa de células, funcionando como um mecanismo supressor tumoral. Logo, a telomerase encontra-se reativada entre 85-90% dos tumores humanos, o que garantiria potencial proliferativo infinito (imortalidade) às células (BLASCO, 2005; MACIEJOWSKI; LANGE, 2017).

Modelos animais deficientes para telomerase ( $Tert^{-/-}$ ) apresentaram atrofia e diminuição da regeneração de tecidos, como o sistema digestório, epitelial e hematopoié-

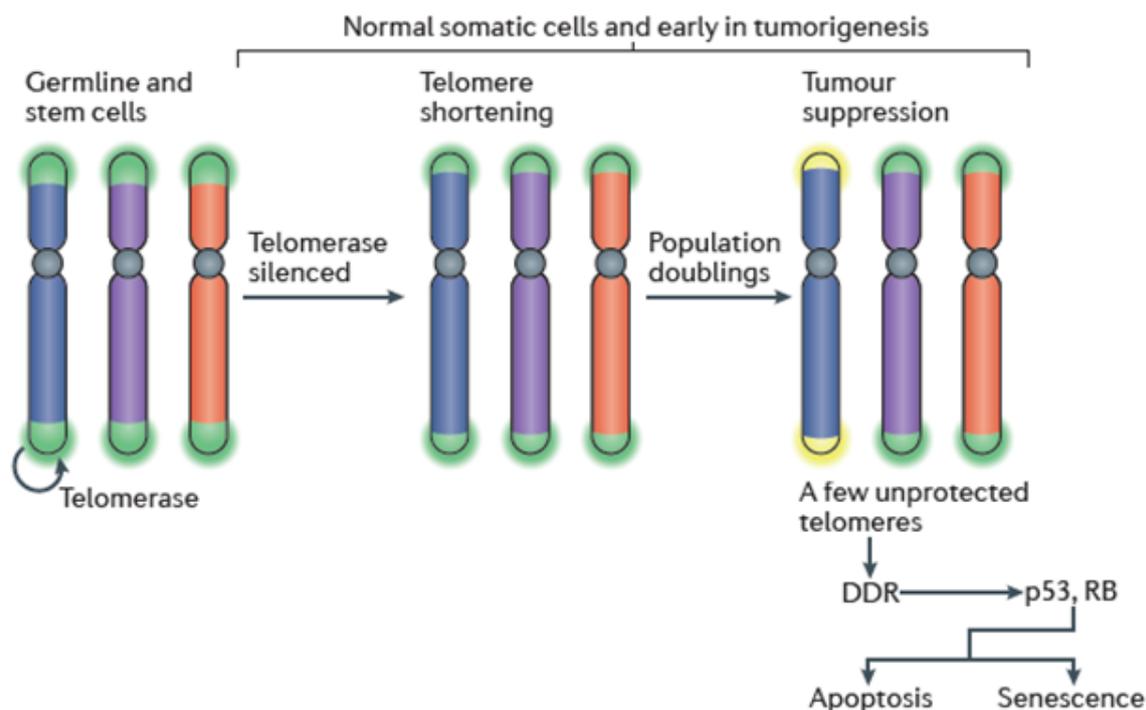


Figura 1.3: **Telomerase e o encurtamento de telômeros.** Em células germinativas e tronco, a telomerase está ativa, prevenindo o encurtamento dos telômeros. Em células somáticas, a telomerase é inativa pelo silenciamento do gene TERT. Assim, a cada divisão celular há o encurtamento dos telômeros. Telômeros que atingem um tamanho crítico perdem seu papel protetor e ativam mecanismos de reparo do dano ao DNA, os quais induzem os processos de senescência e apoptose. Desta forma, o encurtamento dos telômeros acoplado à deficiência da telomerase funcionam como um mecanismo supressor tumoral. Retirado de Maciejowski and Lange (2017).

tico; entretanto, doenças associadas ao envelhecimento, como o câncer, não foram reproduzidas, enfatizando a necessidade de mutações adicionais para o desencadeamento do processo de tumorigênese. Além disso, esses modelos  $Tert^{-/-}$  mostraram redução na incidência de câncer, reforçando o papel de supressor tumoral em cenários com telômeros curtos. Já modelos que super expressam telomerase, ou seja, teoricamente apresentariam células "imortais", mostraram-se mais suscetíveis ao desenvolvimento de tumores (Tabela 1.1) (BLASCO, 2005).

### 1.2.2 Alongamento Alternativo de Telômeros

Tumores que não apresentam alterações na atividade da telomerase, entre 5-15%, utilizam mecanismos alternativos para manter o alongamento dos telômeros (ALT), como a recombinação homóloga. Células ALT positivas apresentam fenótipos característicos; exibindo comprimentos de telômeros altamente heterogêneos e flutuantes, altas taxas de

Tabela 1.1: **Modelos animais para telomerase e tamanho dos telômeros.** Retirado de Blasco (2005).

Genótipo	Fenótipo do Câncer
<b>Modelos de Deficiência da Telomerase</b>	
$Terc^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/(p16/p19ARF)^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/Atm^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/DNA-PKcs^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/Ku86^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/Apc^{min}$	Reduziu incidência de câncer
$Terc^{-/-}/p53^{+/-}$	Aumentou incidência de câncer
$Terc^{-/-}/Parp1^{-/-}$	Reduziu incidência de câncer
<b>Modelos de Super Expressão da Telomerase</b>	
K5-Tert	Aumentou incidência de câncer
Actin-Tert	Aumentou incidência de câncer
Lck-Tert	Aumentou incidência de câncer

troca entre cromátides irmãs consequente de eventos de *crossover*, altas quantidades de DNA telomérico extracromossomal (*C-circle* e *T-circle*) e estruturas especializadas, denominadas corpos PML associados a ALT (APBs).

Sinais resultantes da ativação de mecanismos de reparo de dano ao DNA dupla fita induzem uma busca especializada, a qual é mediada por Rad51 e Hop2-Mnd1, e, assim, à captura das sequências homólogas ao telômero. A síntese de telômeros ocorre, então, pela quebra da fita de DNA, a qual é induzida por telômeros danificados, e pela invasão dessas fitas homólogas, que servirão de modelo (DILLEY; GREENBERG, 2015; SOBINOFF; PICKETT, 2017).

### 1.3 A Hipótese da Má Sorte

Como visto, o câncer é um conjunto de mais de 100 doenças, e essa variabilidade é observada nas extremas alternâncias de incidência de tumores em diferentes tecidos.

No Brasil (Figura 1.4), por exemplo, o câncer de mama representa 28.1% dos casos entre mulheres, enquanto que o câncer de pulmão apenas 5.3%. Já para os homens, o câncer de próstata apresenta uma incidência de 28.6% e o câncer de pulmão de 8.1%. Esta variação encontra-se presente em diversos países, como podemos ver nos dados de distribuição dos Estados Unidos (Figura 1.5), em que a incidência de câncer de mama entre mulheres é de 30% e a de pulmão de 12%; enquanto que entre homens a incidência de câncer de próstata é de 19% e a de pulmão de 14%.

Localização Primária	Casos	%			Localização Primária	Casos	%
			<b>Homens</b>	<b>Mulheres</b>	Mama feminina	57.960	28,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.330	8,1%			Cólon e Reto	17.620	8,6%
Cólon e Reto	16.660	7,8%			Colo do útero	16.340	7,9%
Estômago	12.920	6,0%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.890	5,3%
Cavidade Oral	11.140	5,2%			Estômago	7.600	3,7%
Esôfago	7.950	3,7%			Corpo do útero	6.950	3,4%
Bexiga	7.200	3,4%			Ovário	6.150	3,0%
Laringe	6.360	3,0%			Glândula Tireoide	5.870	2,9%
Leucemias	5.540	2,6%			Linfoma não Hodgkin	5.030	2,4%
Sistema Nervoso Central	5.440	2,5%			Sistema Nervoso Central	4.830	2,3%

Figura 1.4: Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo no Brasil. <sup>1</sup>

	Male				Female		
Estimated New Cases	Prostate	161,360	19%		Breast	252,710	30%
	Lung & bronchus	116,990	14%		Lung & bronchus	105,510	12%
	Colon & rectum	71,420	9%		Colon & rectum	64,010	8%
	Urinary bladder	60,490	7%		Uterine corpus	61,380	7%
	Melanoma of the skin	52,170	6%		Thyroid	42,470	5%
	Kidney & renal pelvis	40,610	5%		Melanoma of the skin	34,940	4%
	Non-Hodgkin lymphoma	40,080	5%		Non-Hodgkin lymphoma	32,160	4%
	Leukemia	36,290	4%		Leukemia	25,840	3%
	Oral cavity & pharynx	35,720	4%		Pancreas	25,700	3%
	Liver & intrahepatic bile duct	29,200	3%		Kidney & renal pelvis	23,380	3%
All sites	836,150	100%	All sites	852,630	100%		

Figura 1.5: Distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2017 por sexo nos Estados Unidos. Retirado de Siegel, Miller and Jemal (2017).

Algumas dessas variabilidades estão associadas a fatores de risco conhecidos (VINEIS; WILD, 2014), como o uso de tabaco, consumo de álcool, exposição a raios UV, ou infecção por papiloma vírus humano (HPV) e vírus da hepatite C (HCV). Entretanto esses fatores explicariam diferenças em populações específicas, ou seja, as quais estiveram expostas aos carcinógenos. Fatores hereditários, ou seja, predisposições genéticas, como mutações penetrantes nos genes BRCA1 ou APC, também são contribuintes ao desenvolvimento de tumores, entretanto apenas 5-10% dos casos apresentam esta característica (FEARON, 1997). Sendo assim, fatores ambientais e genéticos não são suficientes para justificar a diferença entre a incidência de câncer, ou seja, o risco de câncer tecido-específico.

### 1.3.1 O Terceiro Fator

Em 2015, Tomasetti & Vogelstein sugeriram um terceiro fator a ser considerado no desenvolvimento de tumores, o efeito estocástico associado às divisões de células tronco durante a vida inteira para cada tecido (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015). Além disso, mostraram que poderiam quantificar numericamente estes efeitos estocásticos consequentes da replicação do DNA e distingui-los dos efeitos externos/ambientais.

O conceito proposto é baseado em mutações randômicas que ocorrem durante a replicação do DNA em células tronco normais, as quais, juntamente a falha dos mecanismos de reparos, tornam-se mutações fixas (Figura 1.6). Como visto previamente (1.1.2), células tronco são mais propensas a acumular mutações, além de que grande parte das células em tecidos estão parcial ou totalmente diferenciadas, possuindo, então, um curto período de vida (REYA et al., 2001). Assim, presumiram que haveria uma forte correlação entre o número de divisões de células tronco ao longo da vida e o risco de câncer nos diferentes tecidos.

A correlação linear de Pearson de 0.804 foi encontrada entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer nos Estados Unidos para 31 diferentes tecidos (Figura 1.7). Os autores ainda destacaram que nenhum fator ambiental ou hereditário apresentou significativa correlação para tantos tipos tumorais, demonstrando, assim, o quão robustos são os resultados encontrados.

Com base na correlação encontrada, Tomasetti & Vogelstein sugeriram que 65% das variações encontradas entre a incidência de câncer em diferentes tecidos pode ser

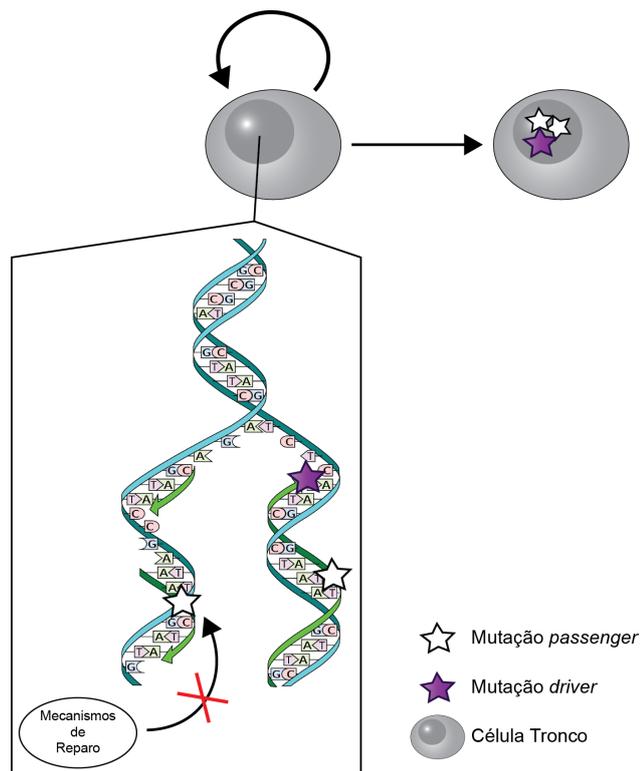


Figura 1.6: **Efeitos estocásticos da replicação do DNA.** A cada replicação do DNA, as células tronco normais sofrem em média 3 mutações randômicas (TOMASETTI; VOGELSTEIN; PARMIGIANI, 2013), as quais não são reparadas e tornam-se fixas.

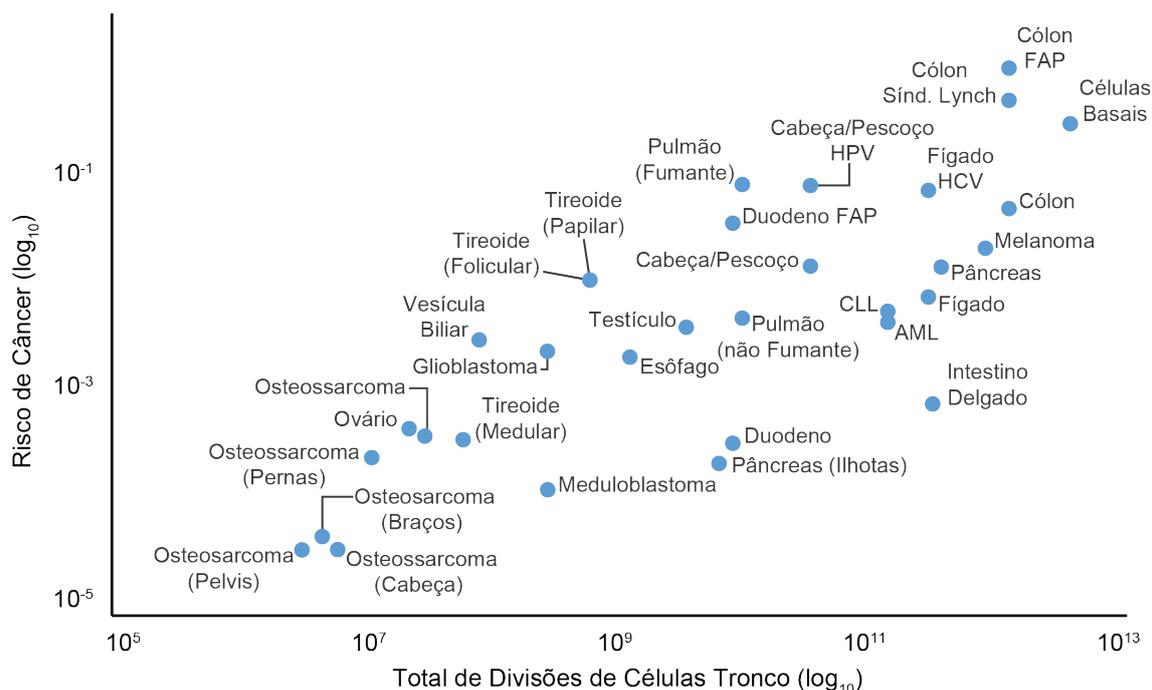


Figura 1.7: **Relação entre o número de divisões de células tronco ao longo da vida e o risco de câncer em diferentes tecidos.** FAP: Polipose Adenomatosa Familiar, HCV: vírus hepatite C, HPV: papiloma vírus humano, CLL: Leucemia Linfóide Crônica, AML: Leucemia Mieloide Aguda. Adaptado de Tomasetti and Vogelstein (2015).

explicada pelo número total de divisões de células tronco nesses tecidos. Isto é, mutações randômicas ocorridas durante a replicação do DNA de células tronco normais (efeito replicativo) são as maiores contribuintes para o desenvolvimento de tumores, o que caracteriza uma má sorte. Além disso, os autores demonstraram que mesmo para tumores associados previamente a fatores de risco e hereditários este terceiro fator é essencial; em que, neste caso, os demais fatores seriam apenas adicionais aos efeitos estocásticos intrínsecos.

### 1.3.2 A Contribuição dos Fatores Extrínsecos

Em resposta à hipótese da má sorte, porém em contrapartida, Wu et al. evidenciaram que fatores intrínsecos contribuem de maneira modesta no desenvolvimento tumoral. De fato, não são capazes de gerar mutações endógenas suficientes para o risco de câncer observado (WU et al., 2016). Baseados em hipóteses convencionais, assumiram que o risco de câncer pode ser aumentado pelo acúmulo de mutações *driver* em células tronco, o qual é influenciado tanto por fatores extrínsecos quanto processos intrínsecos (Figura 1.8 eq.). Além disso, enfatizaram que uma simples regressão linear (Figura 1.7) não é

suficiente para distinguir entre ambos os fatores. Assim, utilizando 4 metodologias computacionais distintas demonstraram que fatores externos possuem uma contribuição de 70-90% para a maior parte dos tipos tumorais.

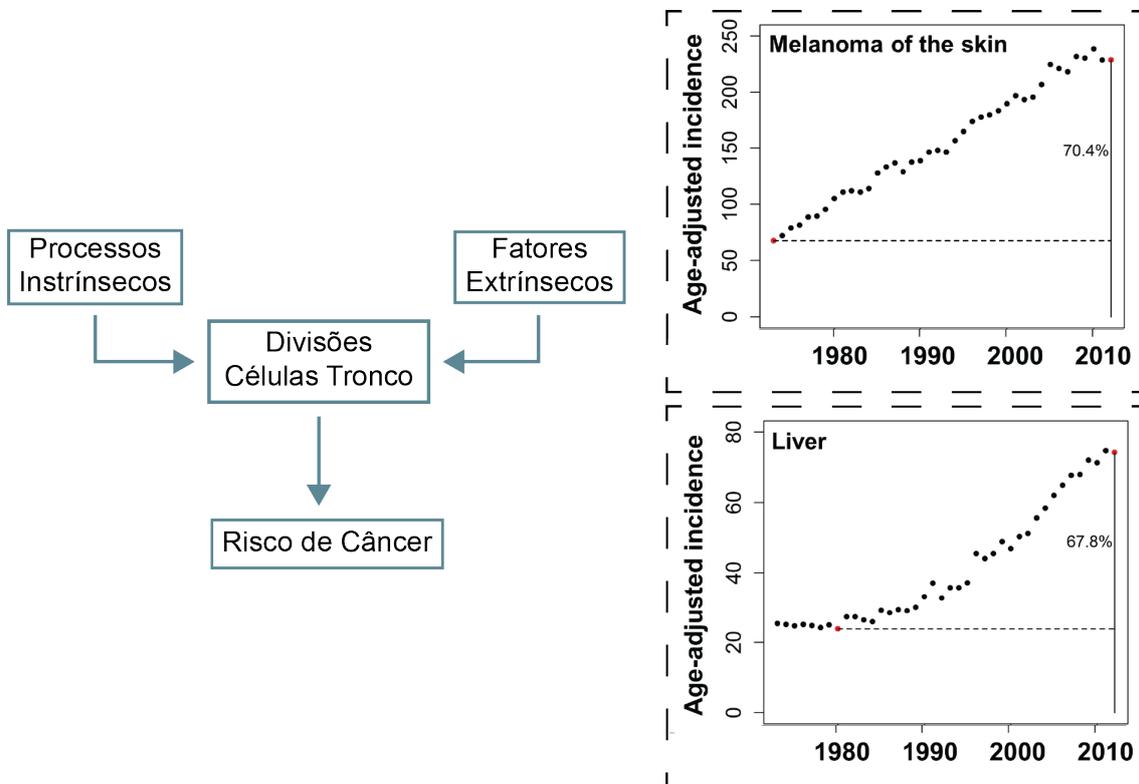


Figura 1.8: **Fatores extrínsecos no risco do câncer.** A esquerda, esquema mostrando a influência de fatores extrínsecos (ex. radiações UV, tabaco) e processos intrínsecos (ex. mutações randômicas consequentes da replicação do DNA) sobre o risco de câncer através das divisões de células tronco. A direita, gráficos demonstrando o crescimento da incidência entre os anos de 1973 e 2012 para melanoma (topo) e fígado (base). Adaptado de Wu et al. (2016).

Adicionalmente, utilizaram dados de incidência entre os anos de 1973-2012 expondo o crescimento para alguns tipos tumorais (Figura 1.8 dir.), o que sugere grande contribuição de fatores extrínsecos, como estilo de vida e mudanças ambientais, os quais se modificam ao longo dos anos.

### 1.3.3 O Terceiro Fator em Escala Mundial

Visto que a correlação entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer nos diferentes tecidos poderia ser um artefato da população americana, Tomasetti et al. calcularam o coeficiente de correlação de Pearson para 69 países (TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017), o que representaria a variabilidade de ambientes ao redor do

mundo. Foram encontradas fortes correlações positivas para todos os países avaliados (Figura 1.9), sendo estas  $> 0.70$  para 89% dos países; sustentando, assim, a hipótese da má sorte.

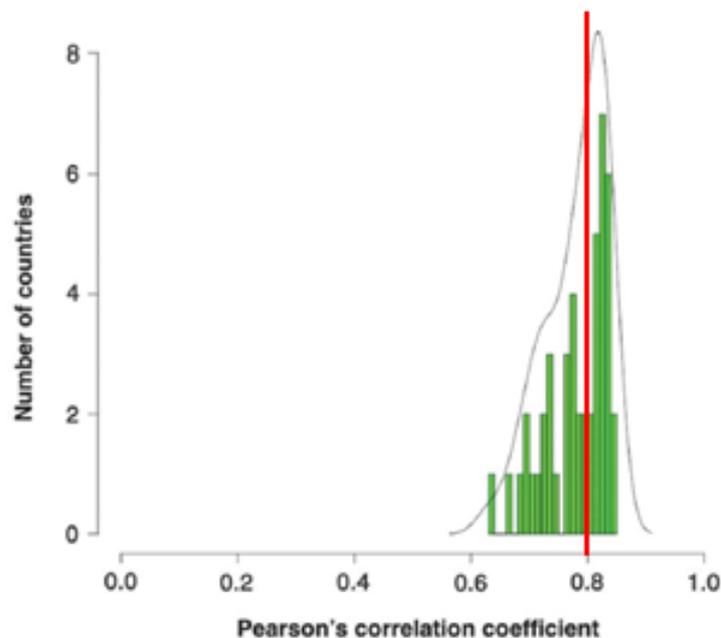


Figura 1.9: **Correlações entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer em diferentes países.** O eixo x representa os coeficientes de correlação e o eixo y representa o número de países com determinado coeficiente de correlação. A correlação média foi 0.80 (vermelho). Retirado de Tomasetti, Li and Vogelstein (2017).

### 1.3.4 Conclusões e Implicações da Hipótese da Má Sorte

O fator associado aos efeitos estocásticos da replicação do DNA de células tronco normais foi apontado (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015; TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017) como o maior contribuinte no desenvolvimento de tumores. Baseado na hipótese de que o número de mutações endógenas consequentes da divisão de células tronco normais em tecidos é semelhantemente distribuído entre indivíduos da mesma faixa etária na população mundial, este terceiro fator explicaria as diferenças encontradas na incidência de câncer entre tecidos e consequente risco.

Os fatores ambientais e genéticos podem variar entre indivíduos e populações, aumentando o risco de câncer apenas em populações específicas. Assim, devem ser considerados multiplicadores do efeito replicativo (TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017), isto é, podem aumentar diretamente o número de divisões de células tronco ou a taxa de mutações por divisões, como visto em fenótipos mutadores (STRATTON; CAMPBELL;

FUTREAL, 2009).

A prevenção primária, i.e., não exposição a fatores de risco, tem sido o principal mecanismo para reduzir as mortes por câncer (VINEIS; WILD, 2014). O surgimento do terceiro fator ressalta que nem todos os tipos de tumores podem ser prevenidos desta maneira, principalmente aqueles em que todas as mutações *driver* são resultantes dos efeitos replicativos. Neste caso, a prevenção secundária, i.e., detecção precoce e intervenção, seria a única opção. Em virtude que maior parte dos tumores necessita do acúmulo de diversas mutações (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009; VOGELSTEIN et al., 2013), aqueles que apresentam parte das mutações *driver* resultante de fatores ambientais ou genéticos seriam impactados pela prevenção primária e poderiam, então, ser evitados. Logo, o fato de grande parte das mutações serem possivelmente devido a má sorte não implicaria que o câncer não possa ser prevenido.

#### 1.4 Concentração de Ancestrais

Como visto anteriormente na Figura 1.7, tecidos que apresentam maior número de divisões de células tronco estão associados a um maior risco de câncer. A abordagem da má sorte (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015; TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017) aponta as mutações randômicas decorrentes da replicação do DNA de células tronco normais como justificativa para esta correlação positiva, ou seja, quanto maior o número de divisões de células tronco maior o número de mutações endógenas sofridas. Além disso, enfatizam que fatores ambientais e genéticos podem afetar o risco de câncer para determinados tecidos ao aumentarem diretamente o número de divisões de células tronco ou a taxa de mutações, como pode ser observado nos casos de câncer de cólon com mutações no gene APC (FAP) e câncer de pulmão de pacientes fumantes. Já a abordagem contraditória (WU et al., 2016) afirma que sendo os fatores extrínsecos a principal fonte de mutações, esta correlação é explicada pela perpetuação e acúmulo de mutações devido ao maior número de divisões realizado por células tronco ao longo dos anos.

Dentro deste contexto, propomos e testamos *in silico* um novo conceito em etiologia tumoral como uma possível explicação para parte desta forte correlação positiva. Em nossa hipótese, tecidos com maior número de divisões de células tronco estão relacionados a maiores riscos de câncer porque apresentam uma elevada **concentração de ancestrais** (AC).

### 1.4.1 O Conceito

Visto que tecidos saudáveis em homeostase devem ter um equilíbrio entre as taxas de divisão e morte, aqueles que concentram seus ancestrais irão apresentar um pequeno número de células ancestrais com elevado número de descendentes e um grande número de ancestrais mortos após diversos ciclos celulares. Sendo assim, um tecido com alto número de divisão de células tronco apresenta um perfil de **alta concentração de ancestrais**, enquanto que um tecido com baixo número de divisão de células tronco um perfil de **baixa concentração de ancestrais** (Figura 1.10).

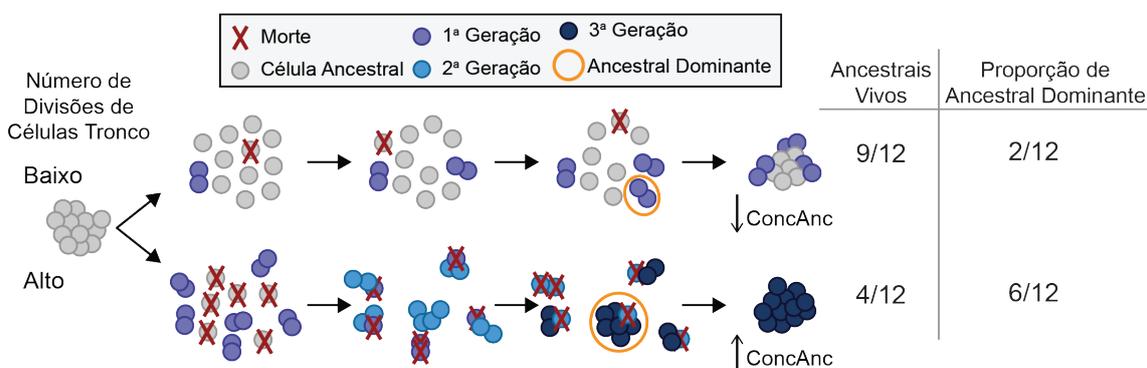


Figura 1.10: **Concentração de Ancestrais.** Tecidos com baixo número de divisões de células tronco (topo) apresentam um valor de baixa AC, em que muitas células pertencentes a população ancestral estão vivas ou deixam descendentes após determinadas gerações, entretanto poucos descendentes em cada ancestral (baixa proporção de ancestral dominante). Tecidos com alto número de divisões de células tronco (base) apresentam um perfil de alta AC, com poucas células pertencentes a população ancestral vivas ou com descendentes, porém muitos descendentes no mesmo ancestral (alta proporção de ancestral dominante). Fonte do autor.

A partir dos dados de saída das simulações, este perfil de AC pode ser quantificado a partir da proporção de ancestrais (células da população inicial) com descendentes e da proporção do ancestral dominante, o qual é calculado a partir do maior número de descendentes provindos de uma única célula ancestral. Desta maneira, perfis de alta AC irão apresentar baixos valores de ancestrais com descendentes e altos valores de proporção de ancestral dominante; enquanto que perfis de baixa AC irão apresentar altos valores de ancestrais com descendentes e baixos valores de proporção de ancestral dominante (Figura 1.10).

### 1.4.2 Modelo Padrão de Competição Oligopolista

Ao procurarmos modelos matemáticos que pudessem suportar nossa hipótese, nos deparamos com uma estrutura similar ao modelo de competição oligopolista de Cournot (MAS-COLELL; WHINSTON; GREEN, 1995), no qual é possível calcular a porcentagem de empresas sobreviventes no mercado para diferentes riscos de investimentos.

Nesta estrutura, o cenário se dá por uma indústria composta por  $n$  empresas idênticas que produzem um produto comum, o qual possui uma demanda de mercado linear. Cada empresa possui um custo marginal, isto é, o custo referente a quantidade de unidades produzidas; logo, não há um custo fixo. A fim de maximizar os lucros, cada empresa deve definir seu nível de produção; entretanto, um investimento deve ser feito previamente a esta escolha. Este investimento pode diminuir o custo marginal desta empresa numa probabilidade  $p \in (0,1)$ , ou, então, mantê-lo numa probabilidade  $1 - p$ . As decisões devem ser feitas por todas as empresas simultaneamente.

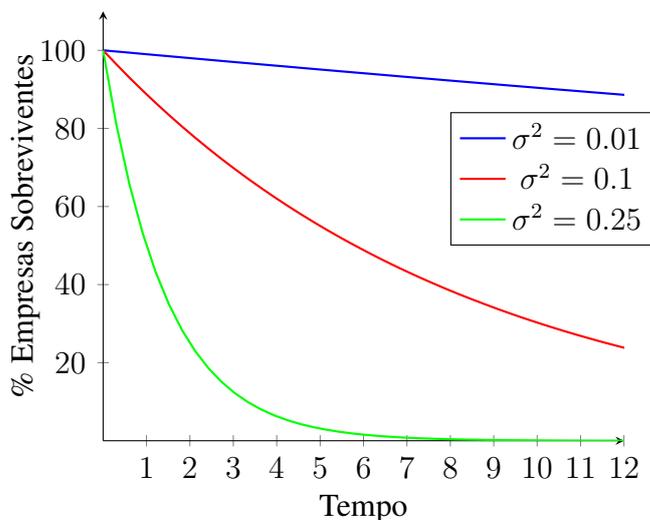


Figura 1.11: **Sobrevivência de mercado.** A porcentagem de empresas sobreviventes ao longo do tempo no mercado está relacionada ao risco de investimento ( $\sigma^2$ ). Desenvolvido por Marcelo C. Griebeler.

A escolha do tipo de investimento irá refletir no *market-share* de determinada empresa, isto é, a porcentagem de mercado detida. Investimentos de alto risco estão relacionados a maiores *market-share*, entretanto, estes estão associados a poucas empresas. Neste cenário, vemos maiores quedas ao longo do tempo ao analisarmos a porcentagem de empresas sobreviventes (Figura 1.11 – linha verde), logo, poucas passam a dominar o mercado rapidamente, caracterizando

uma situação de monopólio. Já investimentos de baixo risco estão relacionados a menores níveis de *market-share*, os quais estão distribuídos entre diversas empresas. Assim, é observado um maior número de empresas compondo o mercado ao longo do tempo (Figura 1.11 – linha azul).

Paralelamente à nossa hipótese, os diferentes riscos de investimentos representam

os tecidos com diferentes números de divisão de células tronco (*CTOR*), a porcentagem de empresas sobreviventes representa a porcentagem de células ancestrais com descendentes e o valor de *market-share* representa a porcentagem do ancestral dominante. Sendo assim, é esperado que tecidos com alto número de divisões de células tronco e alto AC apresentem uma intensa queda de ancestrais com descendentes ao longo de gerações; enquanto que em tecidos com baixo número de divisões de células tronco e baixo AC espera-se uma queda modesta; entretanto, sem que haja alterações do tamanho populacional, visto que neste modelo a demanda de mercado é mantida independente do número de empresas sobreviventes.

Nesta estrutura de mercado, empresas mal-intencionadas utilizam de artimanhas para maximizar lucros e crescer ou eliminar concorrência, de maneira que aumentem o valor de seu *market-share*. Hipoteticamente, em um cenário com empresas realizando investimentos de baixo risco, se uma proporção de empresas se tornar mal-intencionadas, essas podem aumentar seu *market-share*, entretanto não o suficiente para que eliminem as outras empresas e tenham domínio do mercado. Neste caso, um considerável número de empresas se mantém ativas ao longo do tempo, as quais apresentam baixos valores de *market-share*, como visto. Assim, para que empresas mal-intencionadas consigam se sobressair e terem domínio do mercado é preciso que utilizem de potentes artimanhas e realizem investimentos certos.

Já em um cenário com empresas realizando investimentos de alto risco, empresas que se tornam mal-intencionadas podem aumentar seu *market-share* rapidamente e levar a eliminação de diversas empresas num curto período de tempo, passando a dominar o mercado. Neste cenário, investimentos de alto risco certos amplificam as chances de as artimanhas maximizarem o lucro da empresa, fazendo com que aumente seu *market-share*, e, simultaneamente, desvalorizem empresas concorrentes, as quais são eliminadas ao longo do tempo.

Em um cenário de populações de células com diferentes *CTORs*, empresas mal-intencionadas são representadas por mutações *drivers*, as quais conferem vantagens proliferativas ou de sobrevivência. Populações com menor valor de *CTOR* possuem menores chances de perpetuar mutações, visto que, mesmo em situações com aumento do *fitness* celular, a célula não se prolifera o suficiente para se tornar dominante e eliminar as células vizinhas. Nesta situação, mutações devem ser certas e atingir a pouca proporção de células que proliferam para que haja o desenvolvimento de tumores. Populações com maior valor de *CTOR* amplificam as chances de mutações serem acumuladas e perpetuadas, isto,

quando as mesmas ocorrem em células ancestrais que se mantêm vivas e proliferando ao longo do tempo. Desta maneira, tecidos que concentram ancestrais mutados aumentam o risco de desenvolverem tumores. Entretanto, enfatizamos que este cenário é estocástico, podendo haver a formação de tumores tanto em populações com baixo ou alto valor de *CTOR*.

Com base no cenário descrito, em nossa hipótese tecidos com maior número de divisões de células tronco estão associados a maior risco de câncer porque apresentam maiores chances de concentrar ancestrais com mutações.

### **1.4.3 Perspectivas da Concentração de Ancestrais**

Assim, através de testes *in silico*, esperamos confirmar nossa hipótese, demonstrando que tecidos com maior número de divisões de células tronco, como células basais e cólon, possuem um perfil de alta concentração de ancestrais, o qual associado ao acúmulo de mutações aumentam o risco de câncer nesses tecidos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Testar e validar *in silico* o conceito de concentração de ancestrais como justificava para parte da correlação entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer em diferentes tecidos através do *software* esiCancer.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Simular populações de células com diferentes *CTORs* para a caracterização e quantificação do conceito concentração de ancestrais.
- Simular populações de células com diferentes *CTORs* para demonstrar a equivalência entre o conceito concentração de ancestrais e o Modelo de Competição Oligopolista.
- Simular populações de células com diferentes *CTORs* em cenários com variados valores de mutações totais a fim de demonstrar o papel da concentração de ancestrais.
- Simular o impacto dos telômeros no desenvolvimento tumoral em populações de células com diferentes *CTORs*.
- Simular a variação da concentração de ancestrais em populações de células com mesmo *CTOR* e seu impacto na incidência de esiTumors.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 esiCancer: Evolutionary in silico Cancer Simulator

A ferramenta esiCancer (MINUSSI et al., ; MINUSSI, 2015) foi desenvolvida pelo Laboratório de Sinalização Celular<sup>2</sup> em conjunto com um grupo do Instituto de Informática da UFRGS para modelar a história evolutiva de tumores. O programa simula uma população inicial de esiCells, as quais contém um genoma diploide representado por duas listas independentes, uma probabilidade predefinida de divisão e morte e um número máximo de divisões (Figura 3.1a). A cada geração as esiCells pode seguir 4 destinos: divisão, morte, senescência ou não alteração, o qual é definido randomicamente conforme as probabilidades iniciais. Casos em que a esiCell se divide, um número predefinido de mutações ocorre em posições randômicas no genoma; se um oncogene ou um gene supressor tumoral for atingido, o *fitness* da esiCell pode ser alterado (Figura 3.1b).

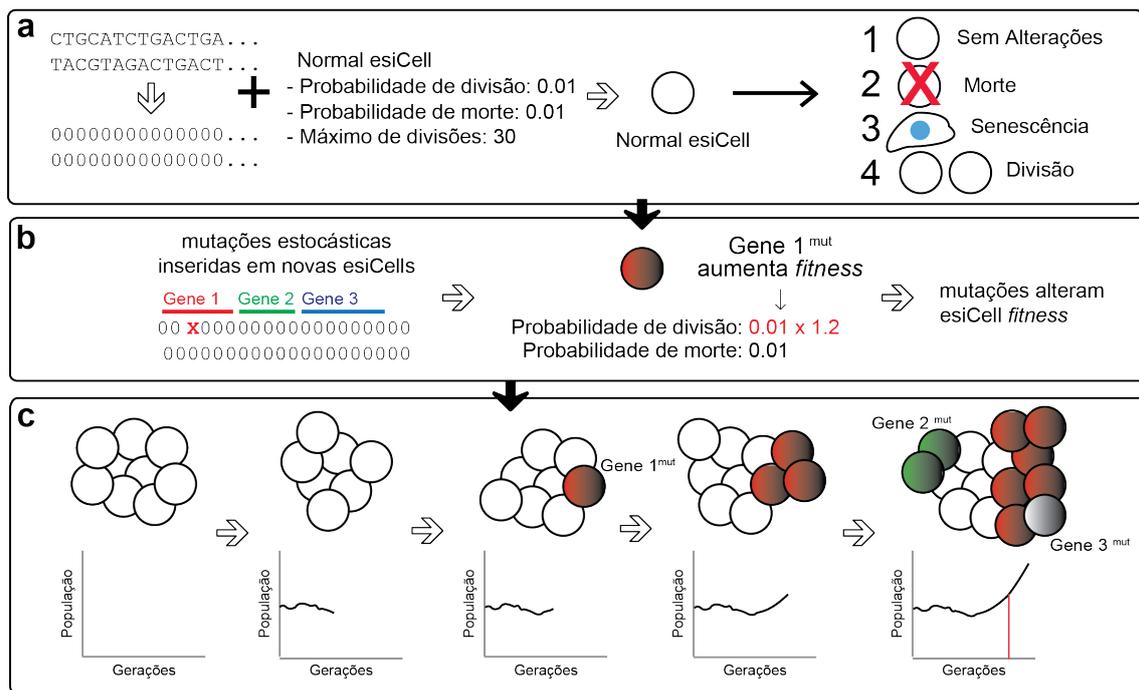


Figura 3.1: **esiCancer software**. **a)** esiCells contendo um genoma diploide, probabilidades de divisão e morte predefinidas e máximo de divisões podem seguir um dos 4 destinos. **b)** esiCells que se dividem sofrem mutações randômicas, se atingir oncogenes ou genes supressores tumorais características da célula são alteradas. **c)** História evolutiva de uma população de esiCells. Retirado de Minussi et al. ()

Este processo ocorre de maneira iterativa ao longo de gerações e, assim, descreve a história evolutiva dessa população de esiCells (Figura 3.1c). Ao final da simulação, o

<sup>2</sup><<http://www.ufrgs.br/labsinal/>>

programa exporta informações de ancestralidade, mutações e frequência de mutações, os quais são utilizados para análises. Por utilizar um contador pseudorrandômico baseado em um *seed* inicial, a ferramenta permite que diferentes trajetos evolutivos sejam modelados.

O programa recebe como *input* uma tabela (*esiTable* - Figura 3.2) contendo a lista de genes que compõem o genoma dessas *esiCells*, os quais podem ser oncogenes (*onc*), genes supressores tumorais (*tsg*), genes normais dominantes (*normd*) ou recessivos (*normr*); além de conter o número de posições que podem ser mutadas para um determinado gene (*ONCBASE*). Nesta tabela são atribuídos os valores de impacto de cada gene caso estes sejam mutados durante o processo evolutivo; como visto, uma mutação pode afetar a célula em sua taxa de proliferação (*PROFUNC*), taxa de morte (*DEFUNC*), taxa de mutações por divisão (*MUTFUNC*) e/ou número máximo de divisões por célula (*TELFUNC*). Além disso, podem ser atribuídos diferentes valores de impacto para casos em que há um gene supressor tumoral já alterado (*WITSG*) ou não (*WOTSG*).

genome size	GENE	TYPE	ONCBASE	PROFUNC	PROWOTSG	PROWITSG	DEFUNC	DEWOTSG	DEWITSG	MUTFUNC	MUT	TELFUNC	TELWOTSG	TELWITSG
3497935	Gene1	tsg	36	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene2	tsg	4	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene3	onc	28	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene4	onc	10	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene5	onc	5	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene6	onc	15	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene7	normd	1	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene8	normd	34	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene9	normr	2	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0
	Gene10	normr	13	MULT	1	1	MULT	1	1	MULT	1	ADD	0	0

Figura 3.2: **esiTable**. Lista de genes contendo suas informações e valores de impacto para mutações. Retirado de Minussi et al. ()

### 3.2 Parâmetros e Cálculos

Com base nos dados de Tomasetti & Vogelstein, foram utilizadas as probabilidades de divisão e morte iniciais de **0.005**, **0.01**, **0.02** e **0.03** para representar diferentes tecidos com diferentes *CTORs*. Para todas as simulações o número máximo de divisões por célula aplicado foi 1000; e, como condições de paradas, foram aplicados o número máximo de gerações igual a 1100 e o número máximo de células na população final igual a 10000, o que consideramos um *esiTumor*.

Foram realizadas simulações com o número de mutação por divisão igual a 0 durante um intervalo de 100 gerações com cada *CTOR* para as análises de caracterização do perfil de AC; e durante o intervalo de 1100 gerações para o cálculo do fator de correção para mutações, o qual utiliza o número de total de divisões. Para a caracterização da AC, foram calculados os valores de porcentagem de ancestrais com descendentes, em que

contabilizamos os ancestrais não eliminados (diferentes de 0) na geração 100 e os valores de porcentagem do ancestral dominante, no qual se utilizou o maior valor de descendentes provindos de uma única célula e a população final da geração 100. A quantificação do perfil de AC em um valor único foi calculada dividindo o valor de porcentagem do ancestral dominante pelo valor da porcentagem de ancestrais com descendentes para cada *seed* de uma simulação.

O fator de correção para mutações foi utilizado para atribuir os valores de mutação por divisão das simulações em que se utilizou o mesmo total de mutações para os diferentes *CTORs*, sendo estes  $\approx 110000$  e  $\approx 600000$  mutações. Além disso, foram realizadas simulações em que foi aplicado o total de 20 mutações por divisão para todos os *CTORs*. Para as análises de telômeros, foram realizadas estas simulações com mutações para os diferentes *CTORs* aplicando-se o máximo de 50 divisões por célula, valor aproximado ao real número de divisões sofridas por células normais (HAYFLICK; MOORHEAD, 1961). As análises de proporção de simulações que geraram *esiTumors* foram feitas utilizando gráficos similares a Kaplan Meier (KAPLAN; MEIER, 1958), em que contabilizamos as simulações que atingiram 10000 ou mais *esiCells*, ou seja, aquelas finalizadas antes da geração 1100. A partir dos gráficos Kaplan Meier, foi calculada a área acima da curva para determinação das médias de gerações com *esiTumors*.

Para o cálculo das frequências de mutação do promotor da TERT foram utilizados estudos clínicos, sendo realizada a média para tecidos que apresentassem dados de mais de um estudo. Para o número de divisões de células tronco por tecidos foi utilizada a Tabela Suplementar 1 de Tomasetti and Vogelstein (2015) e calculado o valor para próstata (TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017).

Para as análises de variação da probabilidade de morte foram realizadas simulações com *CTOR* igual a 0.01 e um máximo de 1000 divisões por células, aplicando-se os padrões de variação de morte *UpDownDownUp* e *DownUpUpDown*. As alterações na probabilidade de morte foram aplicadas nas gerações 1, 50 e 100 para os intervalos 100gen e nas gerações 1, 100 e 200 para os intervalos 200gen. O perfil de AC e o fator de correção de mutações foram calculados utilizando os valores referentes a geração 200 das simulações sem mutação.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando GraphPad Prism<sup>®</sup> versão 7. Para comparações entre grupo foram feitos testes *t* e ANOVA.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização da Concentração de Ancestrais

Com o intuito de provar nossa hipótese, os primeiros testes realizados tiveram o objetivo de mostrar a relação entre o perfil de concentração de ancestrais e os diferentes *cell turnover rates*. Assim, foram simuladas populações de esiCells com diferentes *CTORs*, os quais representam os diferentes tecidos com variados valores de divisões de células tronco; além disso, foi aplicada o número de mutação por divisão igual a zero, a qual representa um cenário basal. A partir dos dados relativos a geração 100, os perfis de AC dos diferentes *CTORs* foram quantificados calculando-se a porcentagem de ancestrais com descendentes (Figura 4.1 esq.) e a porcentagem do ancestral dominante (Figura 4.1 dir.). Como esperado, os valores da porcentagem de ancestrais com descendentes reduzem, enquanto que os valores da porcentagem do ancestral dominante aumentam com o crescimento do valor de *CTOR*. Foi, então, quantificado o perfil de AC em um valor único (Figura 4.2), o qual demonstrou uma correlação linear positiva com  $r = 0.995$  ( $P = 0.005$ ) entre os valores de AC e de *CTOR*.

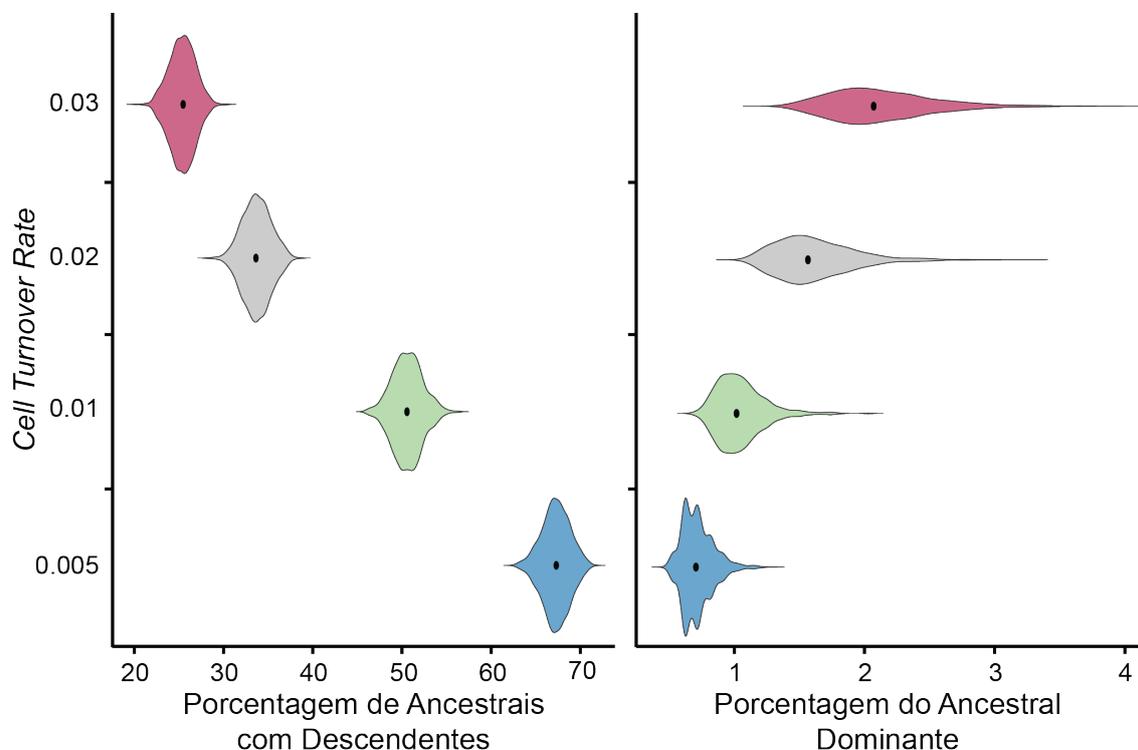


Figura 4.1: **Perfil da Concentração de Ancestrais.** Gráficos de violino para a porcentagem de ancestrais com descendentes (esq.) e do ancestral dominante (dir.) em populações de células com diferentes *CTORs*. **Média±DesvPad:** 25.3±1.44, 33.6±1.58, 50.4±1.68 e 66.9±1.54 (esq.); 0.7±0.12, 1.0±0.19, 1.6±0.31 e 2.1±0.41

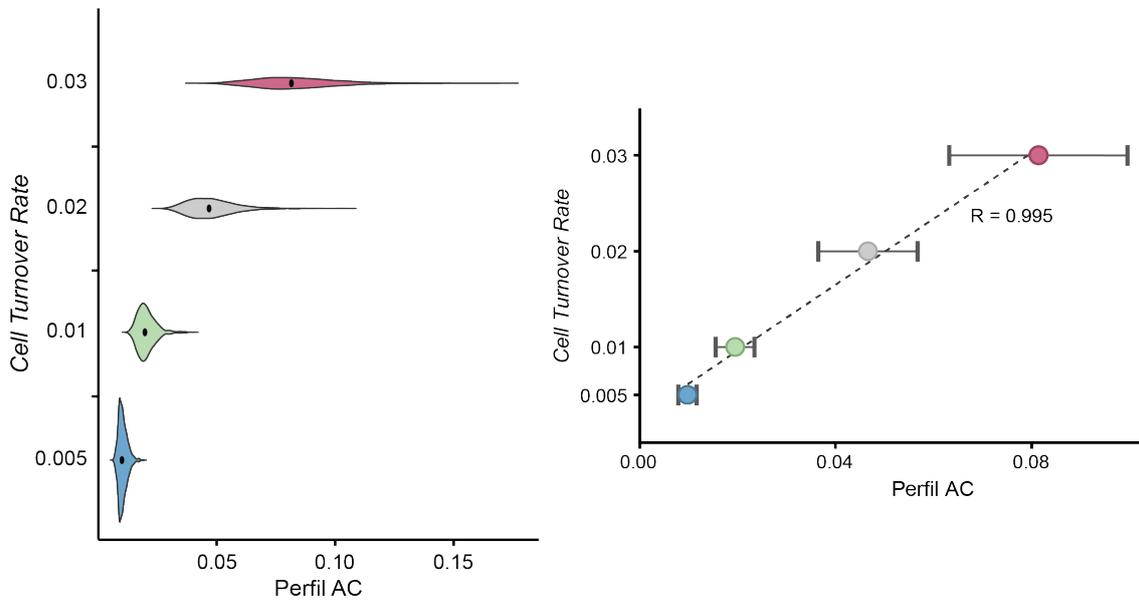


Figura 4.2: **Perfil de AC.** Gráfico de violino para o perfil de AC (esq.); gráfico da correlação positiva entre o perfil de AC e o valor de *CTOR* (dir.)  $P = 0.005$ . As barras representam o desvio padrão positivo e negativo. **Média±DesvPad:**  $0.01 \pm 0.002$ ,  $0.002 \pm 0.004$ ,  $0.047 \pm 0.01$  e  $0.082 \pm 0.18$

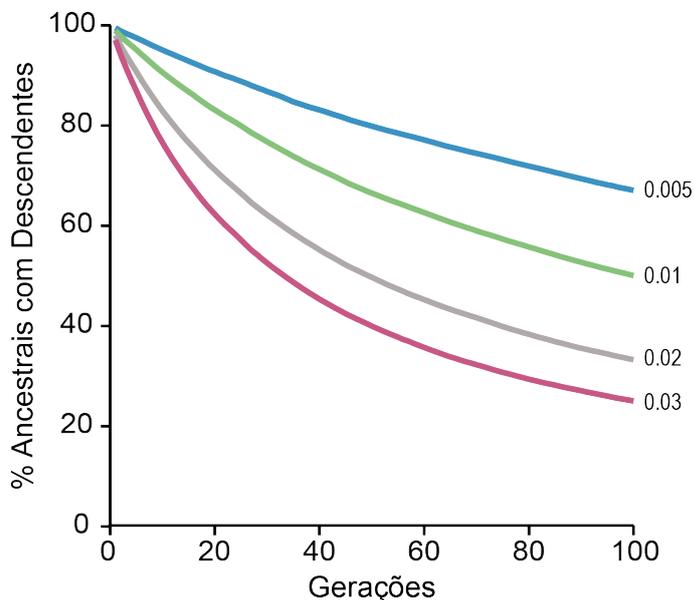


Figura 4.3: **Porcentagem de ancestrais com descendentes ao longo de gerações.** Cada linha representa um *CTOR*.

Ao analisarmos a porcentagem de ancestrais com descendentes ao longo das gerações (Figura 4.3) são vistas diferenças entre as taxas de decaimento de ancestrais por geração entre os diferentes *CTORs*. Semelhante à correlação descrita (Figura 4.2 dir.), maiores valores de *CTORs* estão associados a maiores taxas de decaimento, ou seja, uma maior quantidade de células ancestrais sendo eliminadas ao longo das gerações. Esta taxa de decaimento é numericamente representada pelo coeficiente quadrático

das equações derivadas das curvas do gráfico 4.3, sendo estes 0.0014, 0.0032, 0.0063 e 0.0081 para os respectivos *CTORs* 0.005, 0.01, 0.02 e 0.03; demonstrando uma correlação linear positiva ( $r = 0.99$ ,  $P = 0.01$ ) entre os parâmetros.

Ademais, quantificamos a população total de células para as simulações referentes a figura 4.2 após o intervalo de 1100 gerações (Figura 4.4). Os resultados demonstram uma média populacional final semelhante para os diferentes *CTORs*, havendo maiores flutuações (DesvPad) com o aumento deste valor (eixo vertical dir.). Além disso, vemos que os valores das médias populacionais finais são de  $\approx 1000$ , não havendo amplas alterações em relação ao tamanho populacional inicial. Assim, demonstramos que em simulações ausentes de taxas de mutação por divisão, o tamanho populacional é conservado ao longo das gerações, característica de um tecido em homeostase (REYA et al., 2001), independente do valor de *CTOR*.

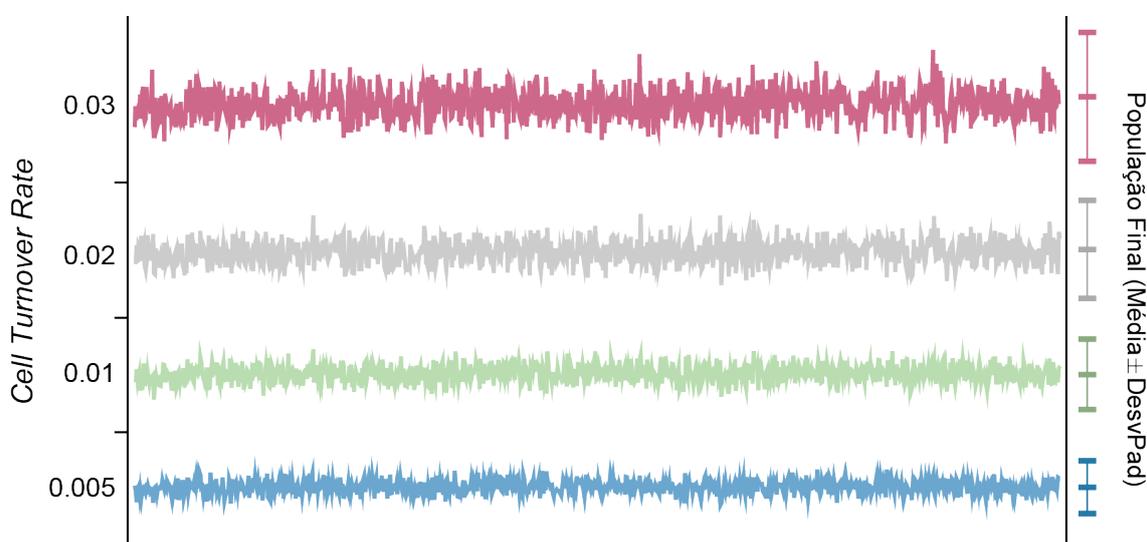


Figura 4.4: **População Total Final.** População total de esiCells de 1000 simulações (eixo hor.) para os diferentes *CTORs* (eixo vert. esq.) durante o intervalo de 1100 gerações. Quantificação da população total (média $\pm$ desvPad), a qual está distribuída ao longo do eixo vertical com valor igual a 1000 para cada diferente *CTOR* (eixo vert.dir.).

Os resultados ilustram a existência da correlação positiva entre o perfil de AC e o valor de *CTOR*, o qual foi demonstrado não ser consequência de alterações no tamanho populacional e sim uma característica intrínseca de tecidos em homeostase. Além disso, a correlação positiva encontrada entre a taxa de decaimento de ancestrais por geração e o valor de *CTOR* demonstra a semelhança estrutural entre o modelo de competição de Cournot (MAS-COLELL; WHINSTON; GREEN, 1995) e a hipótese da AC, validando as comparações citadas (1.4.2). Logo, podemos inferir que o número de divisões total de células tronco de diferentes tecidos está positivamente correlacionado com o perfil de AC, ou seja, tecidos com maior número de divisões de células tronco apresentam um perfil de alta concentração de ancestrais.

## 4.2 O Papel da Concentração de Ancestrais

Como visto anteriormente, a hipótese da má sorte (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015; TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017) e sua contradição (WU et al., 2016) afirmam que tecidos com maiores números de divisões de células tronco são mais suscetíveis a mutações e ao acúmulo das mesmas, o que aumenta o risco de desenvolver câncer. Baseado neste contexto, a mesmo total de mutação por divisão em populações com diferentes *CTORs* geraria uma maior porcentagem de tumores naquelas com altos valores de *CTOR*, isto é, tecidos com maiores números de divisões de células tronco. Como prevista, esta diferença é demonstrada no gráfico de Kaplan Meier para simulações com populações de diferentes *CTORs* com um total de mutação por divisão igual a 20 (Figura 4.5). Foram encontradas as proporções de esiTumors gerados igual a 0%, 2.9%, 19.2% e 38.5% para os respectivos *CTORs* 0.005, 0.01, 0.02 e 0.03.

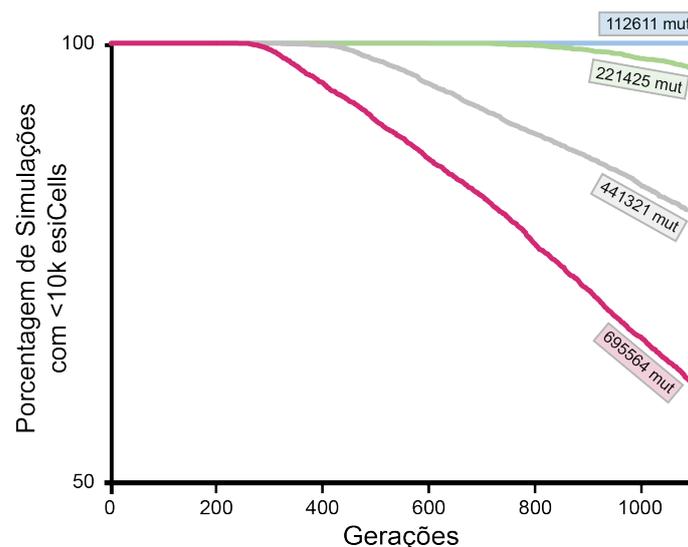


Figura 4.5: **Curvas de Kaplan Meier para diferentes valores de mutação total.** Os gráficos mostram a proporção de simulações com menos de 10000 esiCells ao longo de 1100 gerações. As caixas exibem o número total de mutações, a qual é calculado pelo número de mutação por divisão (=20) e o número total de divisões em 1100 gerações. As linhas correspondem aos diferentes *CTORs*: 0.005 (azul), 0.01 (verde), 0.02 (cinza) e 0.03 (rosa).

O gráfico de Kaplan Meier permite que o tempo médio de sobrevivência seja determinado pelo cálculo da área sobre a curva (KAPLAN; MEIER, 1958); logo, ao calcularmos a área acima da curva estaremos determinando o tempo médio de ocorrência do evento em análise. Neste caso, calculamos a área acima da curva relativa a porcentagem de simulações com menos de 10000 esiCells para que fosse determinado o valor médio de gerações em que ocorrem populações com  $\geq 10000$  esiCells, ou seja, geração de esiTumors (Figura

4.6 esq). Os resultados demonstraram que maiores valores de *CTOR* apresentam maiores médias de gerações com esiTumors (Figura 4.6 dir.); enfatizando que populações com maior número de mutação total estão associadas a maiores risco de desenvolver tumor, como previsto em ambas as abordagens citadas.

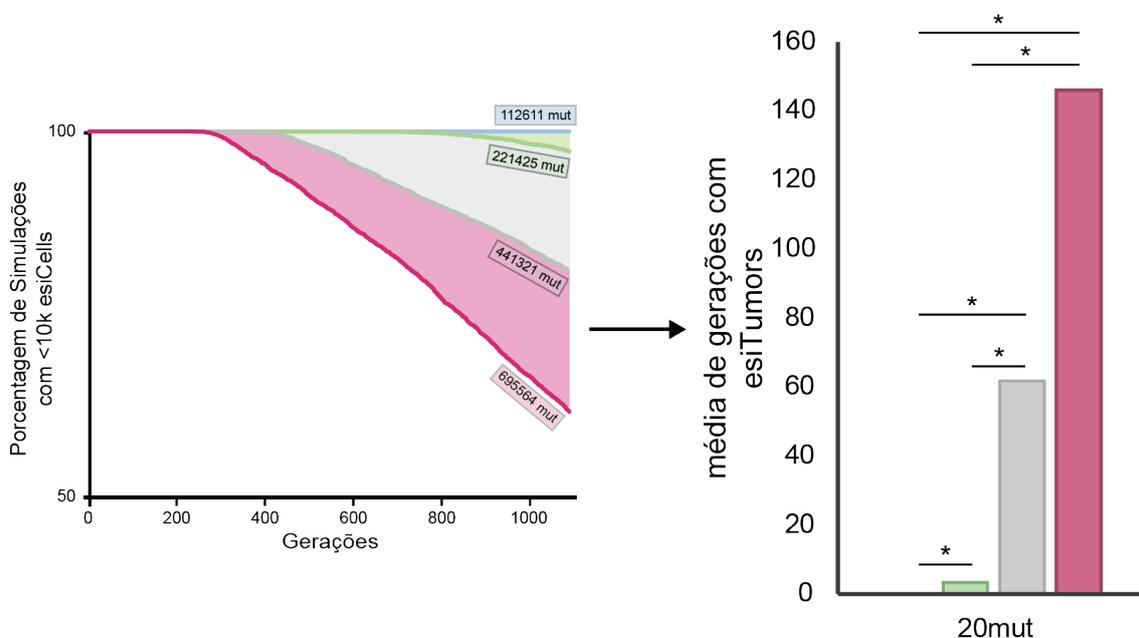


Figura 4.6: **Média de gerações com esiTumors.** Gráfico Kaplan-Meier referente à figura 4.5 apontando a área acima da curva (sombreado) utilizada para cálculo da média de gerações com esiTumors (esq.). Representação em barras da média de gerações contendo esiTumors para os diferentes *CTORs*: 0.005 (azul), 0.01 (verde), 0.02 (cinza) e 0.03 (rosa). \* $P < 0.001$

Neste mesmo contexto, tecidos com diferentes números de divisões de células tronco que recebessem um número de mutação total similar, isto é, um número de mutação por divisão proporcional ao número total de divisões, deveriam apresentar semelhante incidência de tumores. Desta forma, calculamos um fator de correção para cada *CTOR* (Metodologia-3.2), o qual foi aplicado para determinar o total de mutação por divisão corrigida. Foram determinados os valores de mutações por divisão para um total de mutação de  $\approx 110000$ , sendo estas 20, 10, 5 e 3; e para um total de  $\approx 600000$ , sendo estas 107, 54, 27 e 17 para os respectivos *CTORs* 0.005, 0.01, 0.02 e 0.03.

Os resultados referentes ao total de mutações de  $\approx 110000$  (Figura 4.7 esq.) demonstram uma redução na média de gerações com esiTumors em relação as simulações com o número de mutação igual a 20 (Figura 4.6 dir.), já que há redução do número total de mutações. Entretanto, as médias de gerações com esiTumors para os diferentes *CTORs* mostraram-se significamente diferentes ( $P < 0.001$ ), com exceção da comparação entre *CTOR* 0.02 e 0.03 ( $P = 0.53$ ), sendo contrário ao esperado, visto que foi aplicada o

mesmo número de mutação total.

Semelhantemente, os resultados referentes ao total de mutações de  $\approx 600000$  (Figura 4.7 dir.) mostraram variações na média de gerações com esiTumors em relação às simulações com número de mutação igual a 20 relativas às variações no número total de mutações. A comparação da média de gerações com esiTumors entre os diferentes *CTORs* demonstra significativa diferença ( $P < 0.001$ ), sendo, novamente, contrária aos resultados esperados.

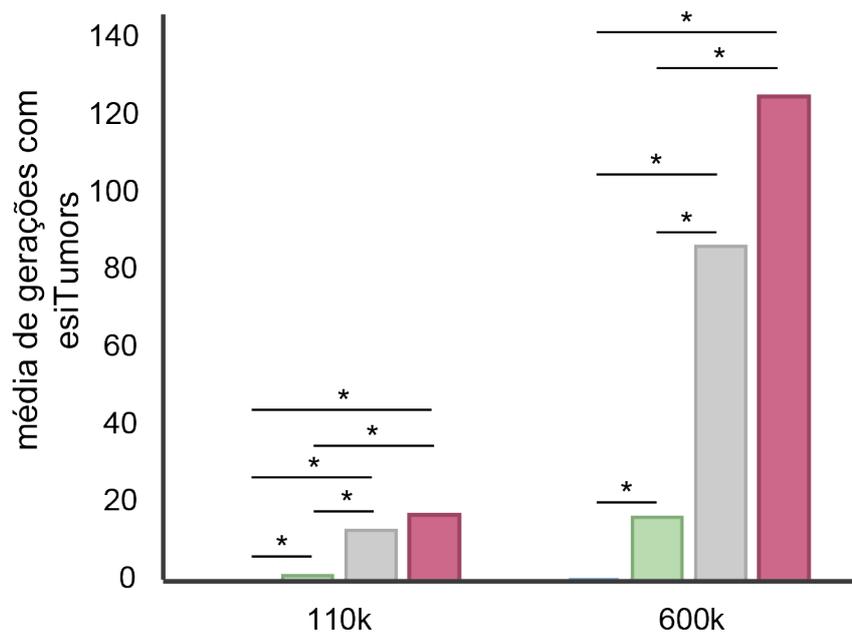


Figura 4.7: **Média de gerações com esiTumors para mutações corrigidas.** Representação em barras da média de gerações contendo esiTumors para os diferentes *CTORs*: 0.005 (azul), 0.01 (verde), 0.02 (cinza) e 0.03 (rosa). Valores referentes as simulações com número de mutações por divisão corrigidas para um total de mutações de  $\approx 110000$  (esq.) e  $\approx 600000$  (dir.).  $*P < 0.001$

Em suma, os resultados demonstram que populações com maiores *CTOR* apresentam maior proporção de tumores devido ao maior número de mutações totais, como visto em simulações com mesmo número de mutação por divisão para os diferentes *CTORs*. Além disso, demonstram que valores de mutação por divisão corrigidas não são capazes de gerar a mesma proporção de tumores nos diferentes *CTORs*, como visto em simulações com o total de mutações de  $\approx 110000$  (esq.) e  $\approx 600000$ .

Assim, podemos afirmar que somente variações nas taxas de mutação não são suficientes para gerar as diferenças observadas na incidência de tumores entre os tecidos com diferentes números de divisões de células tronco, como abordado pela hipótese da má sorte (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015; TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017) e sua contradição (WU et al., 2016). Ademais, suportam nossa hipótese de que uma

característica intrínseca dos tecidos, a concentração de ancestrais, amplifica as chances de mutações serem acumuladas, o que acarreta um maior risco de tumores nesses tecidos.

O perfil de AC para as simulações com mutações foi calculado e não mostrou alterações em relação ao perfil basal (Figuras S1, S2 e S3), demonstrando não ser consequente de mutações.

### 4.3 Telômeros em diferentes perfis de Concentração de Ancestrais

A cada divisão celular ocorre a perda de 50-100 bps da região dos telômeros, processo conhecido como “encurtamento dos telômeros”. Repetidos ciclos levam alguns telômeros a tamanhos críticos, perdendo sua função protetora e, assim, ativando vias de reparo do dano ao DNA. Essas vias induzem os processos de senescência e apoptose celular; desta forma, o encurtamento dos telômeros funciona como um mecanismo supressor tumoral (BLASCO, 2005; MACIEJOWSKI; LANGE, 2017). Neste contexto, sugerimos que tecidos com maior número de divisões de células tronco e, assim, maior AC, apresentam células com maior número de divisões sofridas e estão mais suscetíveis ao encurtamento dos telômeros (Figura 4.8), ocasionando num maior impacto durante o desenvolvimento tumoral.

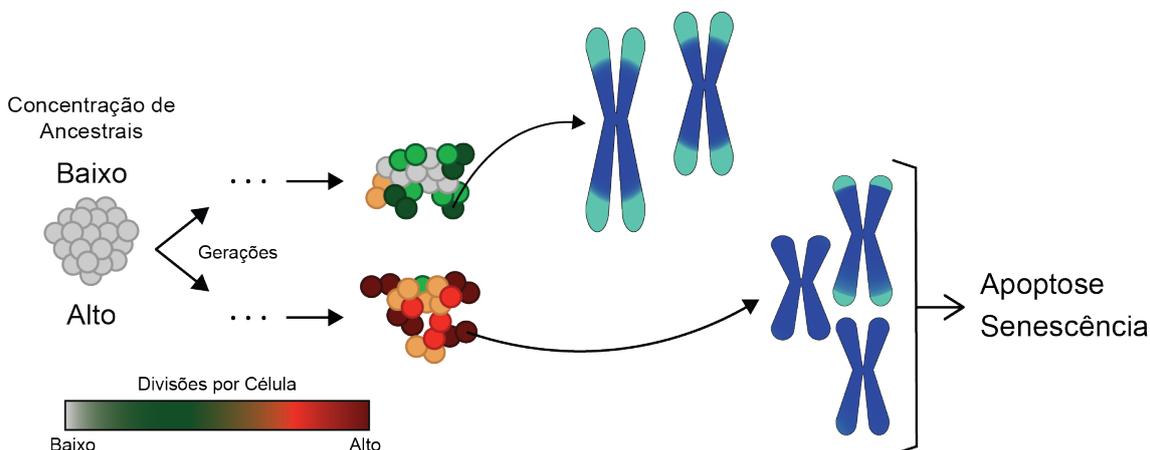


Figura 4.8: **Relação entre telômeros e concentração de ancestrais.** Tecidos com baixa AC apresentam células com baixo ou moderado número de divisões, logo, não há encurtamento de telômeros representativo. Tecidos com alta AC apresentam células com elevado número de divisões, podendo haver telômeros com encurtamento severo e/ou crítico. Assim, essas células podem ser direcionadas aos processos de apoptose ou senescência. Fonte do autor.

A fim de apontar o papel dos telômeros em tecidos com diferentes perfis de AC, realizamos as simulações das Figuras 4.6 e 4.7 utilizando um máximo de divisões por célula

igual a 50, valor aproximado do número de divisões sofridas por células normais (MASCALLELL; WHINSTON; GREEN, 1995). Além disso, foi estipulado que mutações em oncogenes ou genes supressores tumorais não afetariam o tamanho dos telômeros, o que foi atribuído através da esiTable (Metodologia-Figura 3.2). A redução do número máximo de divisões levou a uma redução na média de gerações com esiTumors para simulações com valores de mutações corrigidos e para simulações com 20 mutações (Figura 4.9 base) em relação às simulações com máximo de 1000 divisões (Figura 4.9 topo).

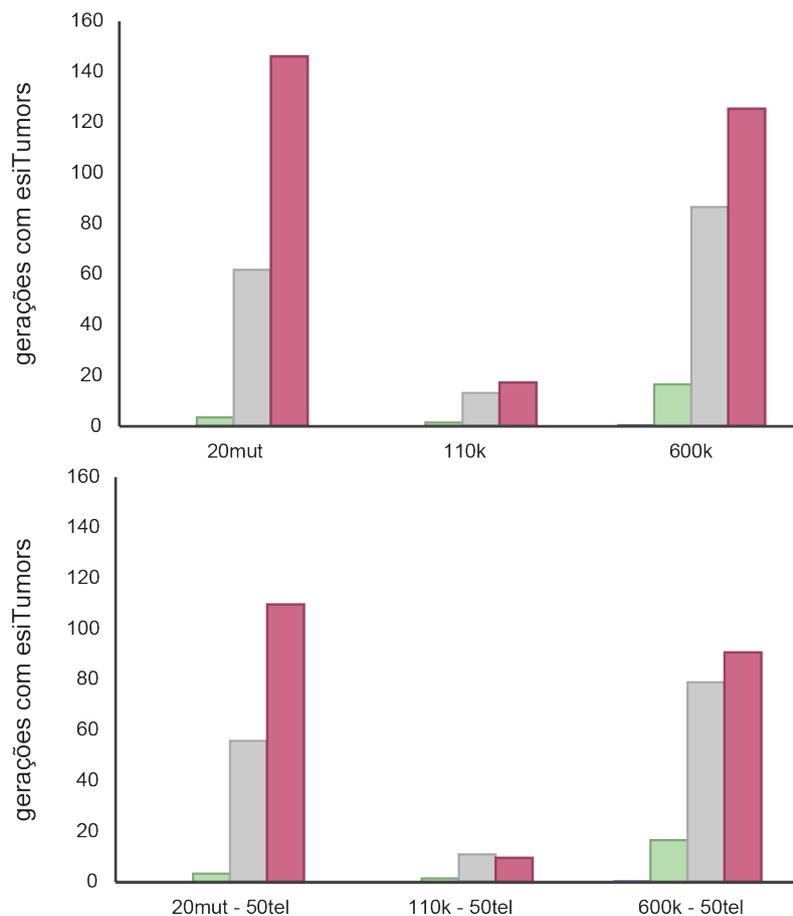


Figura 4.9: **Média de gerações com esiTumors para o máximo de 50 divisões por célula.** Representação em barras da média de gerações com esiTumors para simulações com máximo de divisão 1000 (topo) e 50 (base) para os diferentes *CTORs*: 0.005 (azul), 0.01 (verde), 0.02 (cinza) e 0.03 (rosa).

A figura 4.10 ilustra a quantificação da variação da média de gerações com esiTumors entre as simulações com máximo de divisão igual a 1000 e igual a 50 apresentadas na figura 4.9. Os resultados demonstram elevados e significativos valores de variação para os *CTORs* 0.02 e 0.03; enquanto que os *CTORs* 0.005 e 0.01 apresentaram mínima ou nula variação entre as simulações. Assim, podemos avaliar o impacto do processo de encurtamento de telômeros durante o desenvolvimento tumoral, sendo nossa hipótese suportada

pelos resultados. Logo, populações com maior *CTOR* e maior perfil de AC mostraram-se mais impactados, visto que nestas populações poucas células ancestrais são responsáveis pela homeostase do tamanho populacional e precisam se dividir mais ao longo de gerações. Além disso, populações com menores *CTOR* e menores perfis de AC demonstraram sofrer pouco ou nulo impacto desse processo.

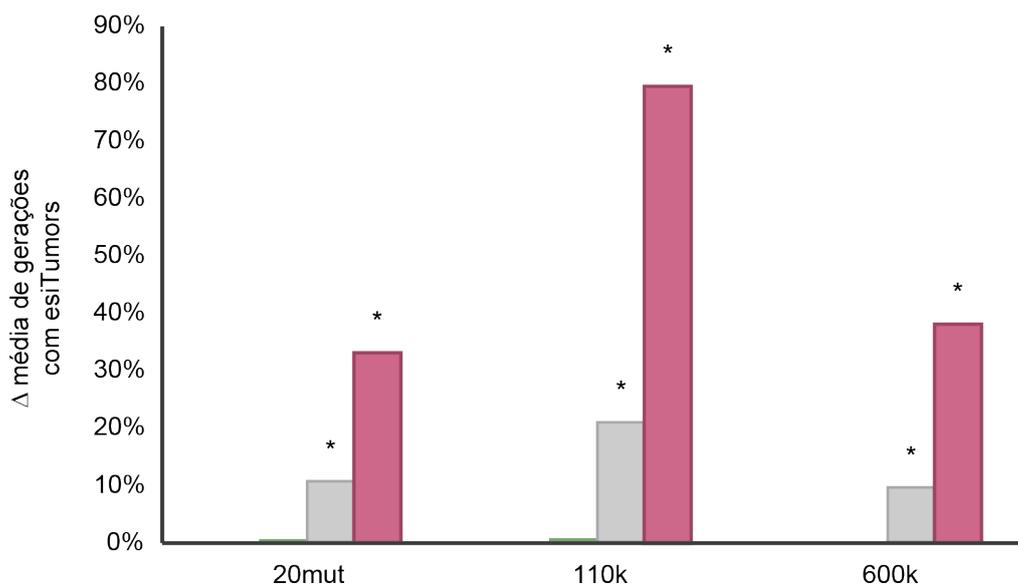


Figura 4.10: **Varição da média de gerações com esiTumors.** Representação em barras da variação da média de gerações com esiTumors entre simulações com máximo de divisão 1000 e 50 para os diferentes *CTORs*: 0.005 (azul), 0.01 (verde), 0.02 (cinza) e 0.03 (rosa). \* $P < 0.001$

O perfil de AC para as simulações com máximo de divisões igual a 50 foi calculado e não demonstrou alterações em relação ao perfil basal (Figuras S4, S5 e S6), logo, telômeros não interferem nesta característica dos diferentes tecidos.

Simulações em que aplicamos um máximo de divisões igual a 1000 (Figuras 4.6 e 4.7) representam situações em que as células conseguem contornar o processo de encurtamento de telômeros, sendo possível a replicabilidade infinita. Este cenário é encontrado em aproximadamente 85% dos tumores humanos, nos quais a telomerase, enzima responsável pela síntese de novo dos telômeros, está reativada devido à expressão do gene TERT (BLASCO, 2005; MACIEJOWSKI; LANGE, 2017). Com base nos resultados apresentados na Figura 4.10, hipotizamos que tecidos com maior número de divisões de célula tronco e maior perfil de AC apresentam maiores frequências de mutações no gene TERT.

Mutações no promotor do gene TERT nas posições -124bp e -146bp têm sido reportadas em diversos tipos tumorais. Ambas mutações criam sítios de ligação *de novo* para fatores de transcrição e, assim, ativam o promotor e a transcrição do gene TERT; o

que leva ao aumento da atividade da telomerase (MACIEJOWSKI; LANGE, 2017; LIU; YUAN; XU, 2016; BELL et al., 2016). Assim, buscamos estudos que reportassem a frequência de mutações no promotor do gene TERT em diversos tipos tumorais (LIU; YUAN; XU, 2016; BELL et al., 2016; KILLELA et al., 2013) e relacionamos aos dados de número de divisões de células tronco de diferentes tecidos (Figura 4.11).

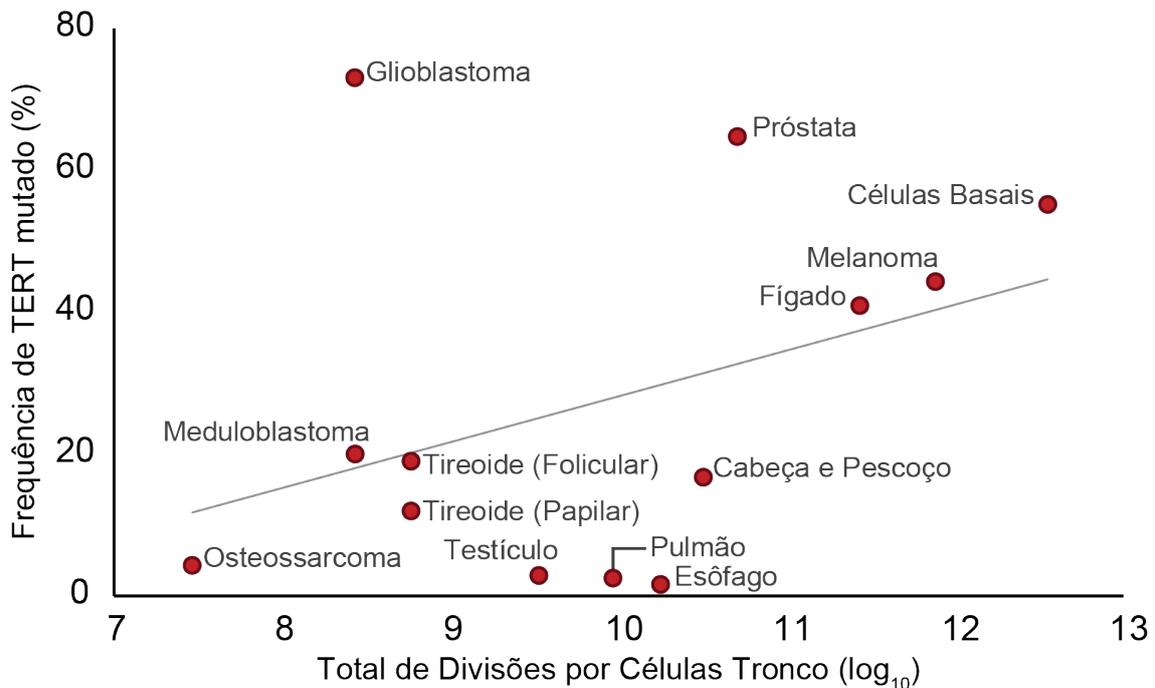


Figura 4.11: **Relação entre a frequência de mutação no promotor da TERT e o número de divisões de células tronco.**

A correlação mostrou-se fraca e não significativa, apresentando um  $r$  igual a 0.39 ( $P = 0.19$ ). Entretanto, é possível observar que tecidos com maior número de divisões de células tronco tendem a apresentar maiores frequências de mutação no promotor TERT. A retirada dos dados de glioblastoma, possivelmente um *outlier*, gera uma correlação positiva com um  $r$  igual a 0.682 e  $P = 0.015$ , entretanto não há uma explicação plausível para este comportamento, sendo este o tipo tumoral com mais registros e maiores frequências de mutações no promotor TERT. Visto que o mecanismo que desencadeia estas mutações é desconhecido (LIU; YUAN; XU, 2016), ainda não é possível explicar as diferenças entre os perfis de mutação, assim como a baixa correlação encontrada entre os parâmetros avaliados.

Como visto, entre 5 a 15% dos tumores humanos mantém o tamanho dos telômeros por mecanismos alternativos (ALT), como a recombinação homóloga, e, geralmente, estes são telomerase-negativos, ou seja, não há detecção de mutações no promotor TERT (DILLEY; GREENBERG, 2015; SOBINOFF; PICKETT, 2017). Assim, isto seria

uma possível justificativa para a fraca correlação. Outra justificativa baseia-se em células tronco como célula de origem de tumores, já que essas expressam TERT naturalmente, não seriam necessárias mutações no promotor para futura ativação da telomerase e manutenção do tamanho do telômeros (BELL et al., 2016).

Em suma, os resultados demonstram que populações com maior *CTOR* e maior perfil de AC apresentam maior impacto do processo de encurtamento dos telômeros, o que é observado pela maior variação da média de gerações com esiTumors. Logo, podemos inferir que tecidos com maior número de divisões de células tronco são mais afetados pelo papel protetor dos telômeros e sua funcionalidade de supressores tumorais ao longo do desenvolvimento tumoral. Assim, enfatizamos a necessidade desses tecidos em contornar os processos citados, o que é ilustrado pela tendência positiva encontrada entre a frequência de mutação no promotor TERT e o número de divisões de células tronco em diferentes tecidos.

#### 4.4 Modificando o Perfil da Concentração de Ancestrais

Como já dito, tecidos em homeostase mantêm um equilíbrio entre as taxas de divisão e morte (REYA et al., 2001), o qual é fundamental para a determinação do perfil de concentração de ancestral. Deste modo, variações na taxa de morte concomitante a uma taxa de proliferação constante levariam a modificações da característica de AC em tecidos sem que houvessem alterações do número total de células.

Uma população de células cuja a probabilidade de morte é reduzida a zero durante um intervalo inicial gera uma população intermediária com maior número de descendentes, já que há mais células ancestrais se dividindo. Em um intervalo seguinte, a aplicação de um aumento em 100% desta probabilidade leva a eliminação de inúmeras células, levando à homeostase da população. Por fim, a redução da morte ao seu valor inicial conserva o balanço entre as taxas de divisão e morte até o final da simulação, assim como o número total de células na população. Em nossa hipótese, este padrão de variação (**DownUpUpDown**) acarreta uma redução da AC (Figura 4.12, topo), visto que esta população intermediária permite que células de diferentes gerações sejam eliminadas quando há o aumento da taxa de morte.

Uma população de células em que a taxa de morte é elevada em 100% no intervalo inicial produz uma população intermediária reduzida, devido às inúmeras eliminações de ancestrais. A redução da morte a zero no intervalo seguinte permite que esta população

intermediária se prolifere a ponto de reestabelecer sua homeostase. Em seguida, a taxa de morte é aumentada ao seu valor inicial, sendo esta mantida pelo restante da simulação, permitindo a constância do número de células total. Assim, em nossa hipótese este padrão (**UpDownDownUp**) gera um aumento na AC (Figura 4.12, base), já que grande parte das células são eliminadas no primeiro intervalo, permitindo a dominância dos ancestrais sobreviventes.

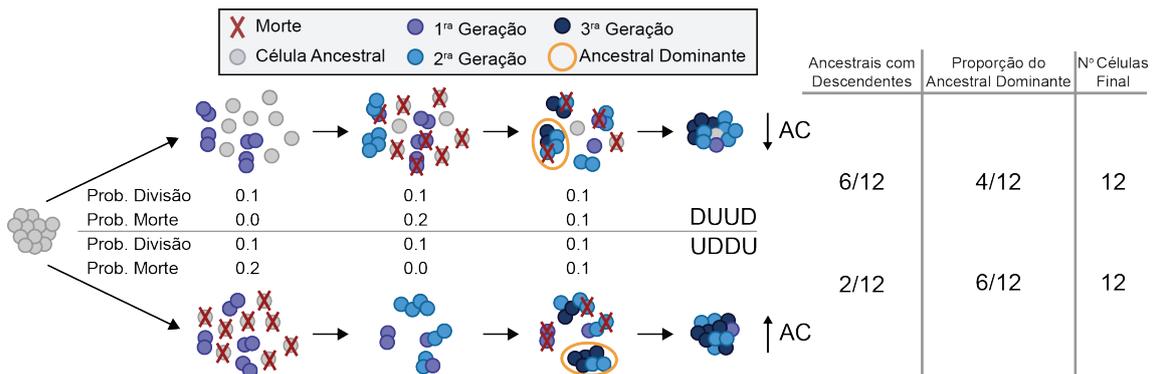


Figura 4.12: **Modificações no perfil da concentração de ancestrais.** No topo, redução, aumento e redução da probabilidade de morte (DUUD), o que leva a diminuição da AC. Na base, aumento, redução e aumento da probabilidade de morte (UDDU), o que leva ao aumento da AC. Ambos os padrões de variação não alteram o número de células total da população. Fonte do autor.

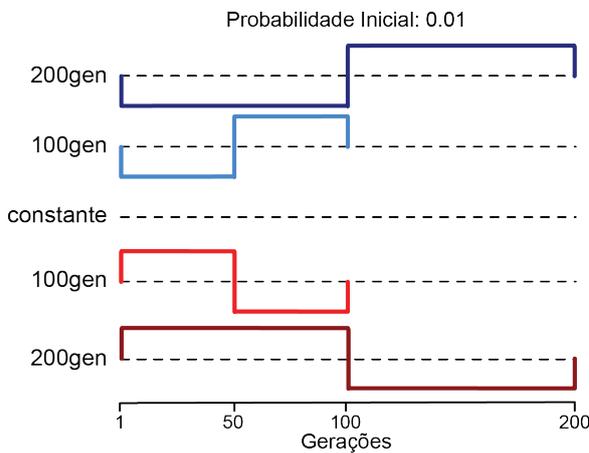


Figura 4.13: **Representação dos padrões de variação da morte.** Em azul as variações DUUD, e em vermelho as variações UDDU.

Para comprovar nossa hipótese, realizamos simulações sem mutações com ambos os padrões de variação (**DUUD** e **UDDU**) no mesmo *CTOR* (0.01) e comparamos com simulações constantes, ou seja, sem variações na probabilidade de morte. Para cada padrão foram testados dois intervalos: variações a cada 100 gerações, totalizando um intervalo de 200 gerações; e variações a cada 50 gerações, totalizando 100 gerações (Figura 4.13).

Para cada padrão e seu intervalo, foram feitas as análises do perfil de AC referente à geração 200 (Figura 4.14). Os padrões de variação de morte DUUD (azul) apresentaram os valores de AC  $0.028 \pm 0.005$  e  $0.043 \pm 0.008$  para os intervalos 200gen e 100gen, respectivamente; o que demonstra uma redução do perfil em relação as simulações constantes ( $0.048 \pm 0.01$ ), como esperado. Já

para os padrões UDDU (vermelho) foram encontrados os valores de AC  $0.104 \pm 0.024$  e  $0.057 \pm 0.011$  para os respectivos intervalos 200gen e 100gen, ou seja, um aumento neste perfil.

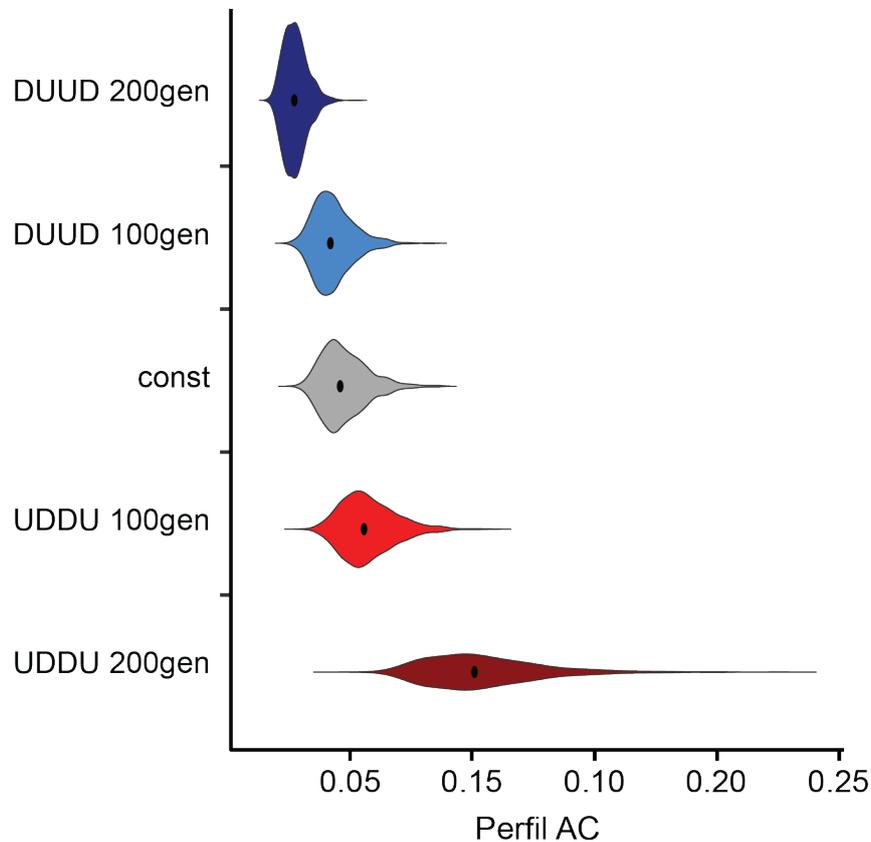


Figura 4.14: **Perfil da Concentração de Ancestrais em padrões de variação de morte.** Perfil AC de populações de células com mesmo *CTOR* para simulações com variações de morte DUUD (azul), UDDU (vermelho) e simulações constantes (cinza).

Além disso, demonstramos que os padrões de variação da probabilidade de morte não alteram a homeostase da população de células, visto que após 1100 gerações o tamanho populacional é mantido e semelhante ao valor inicial (Figura 4.15). Logo, as alterações dos valores dos perfis de AC resultantes dos padrões UDDU e DUUD não são consequentes de mudanças no tamanho populacional, suportando a hipótese de que AC é uma característica intrínseca dessa população de células.

Com a comprovação da modificação dos perfis de AC, fomos testar o impacto dos padrões de variações de morte no desenvolvimento de esiTumors (Figura 4.16); assim, realizamos as simulações referentes às Figuras 4.13 e 4.14 com a adição de um total de mutação por divisão corrigida conforme o número de divisões total; sendo estas 85, 60, 54, 48 e 32 para os respectivos padrões UDDU 200gen, UDDU 100gen, const, DUUD 100gen e DUUD 200gen. Simulações DUUD apresentaram redução na média de gera-

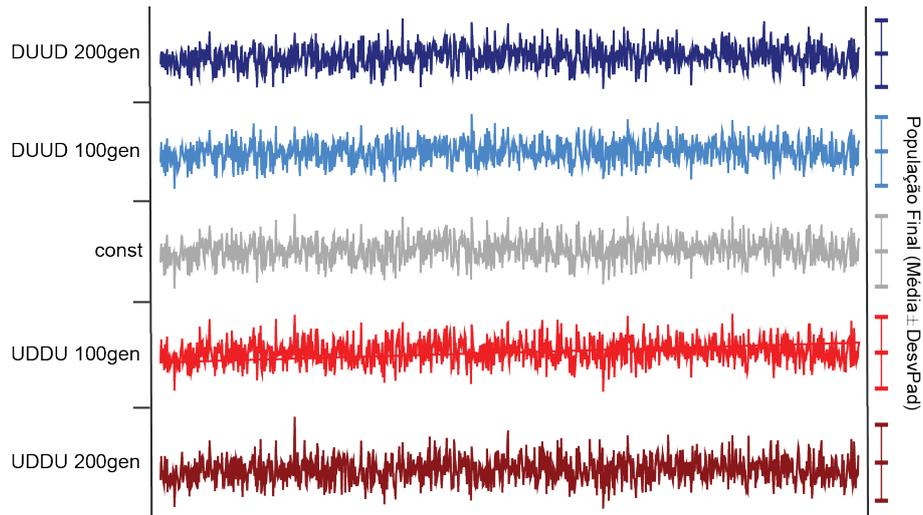


Figura 4.15: **População total final em padrões de variação de morte.** População total de esiCells de 1000 simulações (eixo hor.) para o mesmo *CTOR* com padrões de variações de morte ou não (eixo vert. esq.) durante o intervalo de 1100 gerações. Quantificação da população total (média±desvPad), a qual está distribuída ao longo do eixo vertical com valor igual a 1000 para cada população (eixo vert. dir.).

ções com esiTumors em relação às simulações constantes, sendo esta redução superior e significativa ( $P < 0.001$ ) para o intervalo de 200gen. O intervalo de 100gen gerou uma redução inferior, a qual apresenta  $P = 0.002$ . Já simulações UDDU apresentaram aumento nos valores da média de gerações com esiTumors, o qual foi sutil para o intervalo de 100gen ( $P = 0.067$ ), porém elevado e significativo para o intervalo de 200gen ( $P < 0.001$ ).

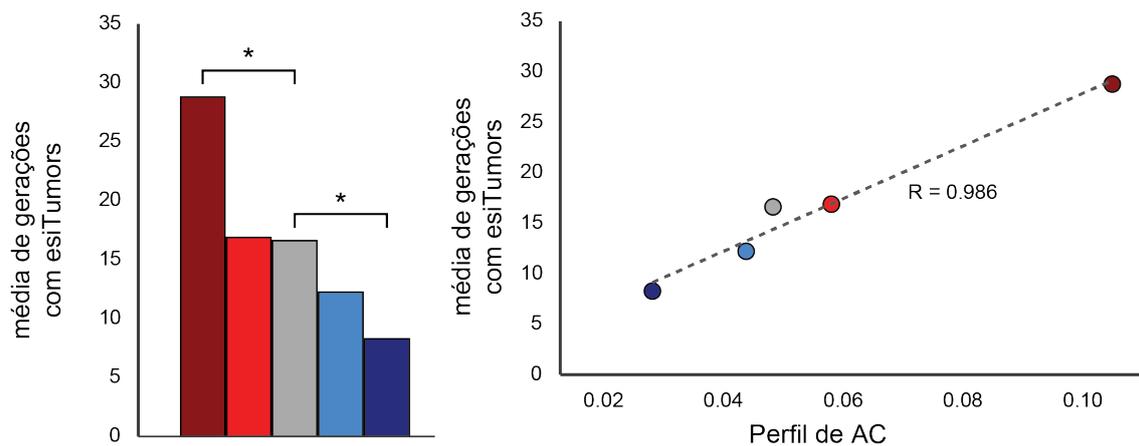


Figura 4.16: **Média de gerações com esiTumors em padrões de variação de morte.** Representação em barras da média de gerações com esiTumors (esq.); correlação entre o perfil AC e a média de gerações com esiTumors (dir.) de populações de células com mesmo *CTOR* para simulações com variações de morte DUUD (azul), UDDU (vermelho) e simulações constantes (cinza).  $P = 0.002$

Os resultados demonstram que padrões de variação de morte que levam ao au-

mento do perfil de AC (UDDU) estão associados a maiores valores de média de gerações com esiTumors; enquanto que padrões que reduzem o perfil de AC (DUUD) estão associados a menores valores de média de gerações com esiTumors. Assim, observamos a existência da correlação linear positiva entre o perfil de AC e a média de gerações com esiTumors (Figura 4.16 dir.), a qual apresenta valor de  $r = 0.986$  ( $P = 0.002$ ).

Enfim, podemos demonstrar que padrões que alteram a probabilidade de morte com uma probabilidade de proliferação constante são capazes de gerar alterações no perfil de AC de populações de células com o mesmo *CTOR*. Além disso, demonstramos que a modificação desses perfis impacta na média de gerações com esiTumors, os quais apresentam uma correlação linear positiva. Desta maneira, suportamos nossa hipótese de que populações de células com maiores riscos de desenvolver tumores apresentam maiores valores de perfis de AC; característica intrínseca que, quando modificada, altera estes riscos.

## 5 CONCLUSÃO

Atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte mundial e é observada uma variabilidade na incidência de tumores entre os diferentes tecidos (FERLAY et al., 2015). Algumas dessas variações são explicadas por fatores de risco ou fatores hereditários, entretanto, são restritos a populações específicas, logo, não sendo suficientes como justificativa. Em 2015, Tomasetti & Vogelstein sugeriram um terceiro fator a ser considerado, o qual está associado aos efeitos estocásticos resultantes da divisão de células tronco (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015). Este fator é baseado nas mutações randômicas que ocorrem durante a replicação do DNA de células tronco normais, as quais são mais propensas ao acúmulo de mutações devido sua capacidade de auto renovação e longevidade (REYA et al., 2001; VISVADER, 2011).

Os autores encontraram uma correlação linear positiva com um  $r = 0.804$  entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer para 31 diferentes tecidos (Figura 1.7). Além disso, essa correlação permitiu que sugerissem que 65% das variações encontradas na incidência de tumores entre diferentes tecidos podem ser explicadas pelo número de células tronco nesses tecidos. Neste caso, o maior contribuinte para o desenvolvimento de tumores seria o efeito replicativo, caracterizando um cenário de má sorte (TOMASETTI; VOGELSTEIN, 2015). Em contrapartida, Wu et al. apontaram que este terceiro fator não é capaz de gerar mutações suficientes para a incidência de câncer observada; e demonstraram, através de 4 metodologias computacionais distintas, que fatores externos possuem uma contribuição de 70-90% para maior parte dos tipos tumorais (WU et al., 2016).

Em ambas as abordagens, o número de mutações justifica a relação positiva entre o número de divisões de células tronco e o risco de câncer entre diferentes tecidos, sendo discutida a fonte dessas mutações (fatores extrínsecos / processos intrínsecos). Neste contexto, propomos um novo conceito, em que tecidos com maior número de divisões de células tronco desenvolvem mais tumores porque concentram mais seus ancestrais (1.4). Em nossa hipótese, tecidos com alto número de divisões de células tronco apresentam menor número de células ancestrais com descendentes devido à elevada eliminação de ancestrais ao longo de gerações. Além disso, esses tecidos irão apresentar maiores proporções de ancestral dominante, isto é, um elevado número de descendentes associados a uma única célula ancestral, caracterizando um perfil de alta concentração de ancestrais (Figura 1.10 base). Já tecidos com baixo número de divisões de células tronco apresen-

tam um maior número de células ancestrais com descendentes, visto que poucas acabam sendo eliminadas; ademais, apresentam baixos valores de ancestral dominante, já que os descendentes estão distribuídos em diversos ancestrais, caracterizando um perfil de baixa concentração de ancestrais (Figura 1.10 topo).

Com base na estrutura do modelo de competição de Cournot, em nossa hipótese tecidos com alto número de divisões de células tronco e perfil de AC amplificam as chances de mutações se acumularem e perpetuarem devido a concentração de ancestrais mutados, e, por isso, estão associados a maior risco de tumor.

Para comprovar nossa hipótese, realizamos testes *in silico* utilizando o *software* esiCancer (3.1). Através de simulações com número de mutações por divisão igual a 0, quantificamos os perfis de AC para populações de células com diferentes *CTORs*, o que demonstraram estar positivamente correlacionados (Figura 4.2). Além disso, demonstramos que as diferenças entre os valores dos perfis de AC não são consequentes de variações do tamanho populacional, visto que o mesmo é mantido durante as 1100 gerações simuladas. Ademais, a figura 4.3 demonstra a similaridade estrutural entre nossa hipótese e o modelo de competição de Cournot, suportando as comparações hipotetizadas.

Segundo ambas as abordagens apontadas, tecidos com maior número de divisões de células tronco são mais suscetíveis a mutações e ao acúmulo das mesmas, e por isso desenvolvem mais tumores; o que é demonstrado pelos valores de média de gerações com esiTumors na Figura 4.6 dir., em que simulamos populações com diferentes *CTORs* adicionadas de um mesma total de 20 mutações por divisão. Além disso, nesse contexto, ao aplicarmos o mesmo número de mutação total; isto é, um número de mutação por divisão corrigida conforme o número de divisões total; as populações com diferentes *CTORs* deveriam apresentar a mesma média de gerações com esiTumors. Entretanto, isto não é observado, e vemos que populações com maiores *CTORs* continuam apresentando maiores médias de gerações com esiTumors em relação as populações de menores *CTORs* (Figuras 4.7). Desta forma, podemos afirmar que apenas mutações e diferentes taxas de mutações não são suficientes para justificar a diferença observada na incidência de tumores em tecidos com diferentes valores de divisões de células tronco; suportando nossa hipótese da existência de uma característica intrínseca de tecidos, a qual impacta no risco de tumores por amplificar o acúmulo de mutações, e a qual demonstramos estar positivamente correlacionada ao valor de *CTOR*.

Adicionalmente, sugerimos que tecidos com maiores valores de AC são mais impactados pelo processo de encurtamento dos telômeros, ou seja, uma maior proporção de

tumores é evitada. Devido ao alto *CTOR*, tecidos com alto AC apresentam células com diversas divisões sofridas, e, assim, podem apresentar telômeros com tamanhos críticos, os quais ativam mecanismos de reparo ao dano e direcionam estas células aos processos de senescência e/ou apoptose, agindo similarmente a mecanismos supressores tumorais (Figura 4.8). Foram, então, realizadas as simulações referentes às Figuras 4.6 e 4.7 aplicando-se um máximo de 50 divisões por células, valor próximo ao número de divisões sofridas por células normais (HAYFLICK; MOORHEAD, 1961); e ausentes de mutações que causem impacto no tamanho dos telômeros, simulando, assim, um cenário ausente de reativação da telomerase. Conforme a Figura 4.10, confirmamos nossa hipótese demonstrando que populações com maior *CTOR* (0.02 e 0.03) e, conseqüentemente, maior AC são mais afetadas pelo encurtamento dos telômeros, o que é visto pelas elevadas e significativas variações da média de gerações com esiTumors. Além disso, populações com menores *CTOR* (0.005 e 0.01) demonstraram sofrer mínimo ou nulo impacto deste processo.

Assim, os resultados nos mostram uma maior necessidade de tecidos com maior AC em contornar o mecanismo de encurtamento de telômeros, sugerindo que estes devem apresentar maiores frequências de mutação no promotor do gene TERT, visto que essas mutações são capazes de ativar o promotor e a transcrição do mesmo, aumentando, então, a ativação da telomerase e permitindo o cenário de replicabilidade infinita para a célula (MACIEJOWSKI; LANGE, 2017; LIU; YUAN; XU, 2016; BELL et al., 2016). Porém, dados da frequência de mutação do promotor da TERT oriundos de estudos clínicos não demonstraram estar correlacionados com o número de divisões de células tronco (Figura 4.11), apresentando um  $r = 0.39$ ; entretanto, é possível observar uma tendência positiva. Visto que os mecanismos associados a essas mutações ainda são desconhecidos, não é possível justificar essa fraca correlação. Porém, algumas hipóteses já foram sugeridas, como a hipótese baseada na presença dos mecanismos alternativos para manutenção do tamanho dos telômeros (ALT) (DILLEY; GREENBERG, 2015; SOBINOFF; PICKETT, 2017) ou a hipótese baseada em células tronco como células de origem, visto que não necessitariam de mutações adicionais por já expressarem o gene TERT naturalmente (BELL et al., 2016).

Por fim, sugerimos que a aplicação de padrões de modificação da probabilidade de morte altera o perfil de AC de determinada população de células, sem que haja alteração do tamanho populacional. Em nossa hipótese, padrões que inicialmente reduzem a probabilidade de morte seguidos de um aumento (DUUD) levam a uma redução do perfil

de AC; enquanto que padrões que inicialmente elevam a probabilidade de morte seguida de uma redução (UDDU) apresentam um aumento neste perfil (Figura 4.12). Para comprovação, foram simuladas populações com o mesmo *CTOR* e com um total de mutação por divisão igual a zero em que aplicamos os padrões de modificação da probabilidade de morte. A figura 4.14 demonstra que padrões UDDU aumentam os valores AC, enquanto que padrões DUUD reduzem esses valores em relação a simulações constantes, como esperado.

Em seguida, analisamos o impacto dessas modificações no desenvolvimento tumoral, em que realizamos simulações com a aplicação de um total de mutação por divisão corrigida. Padrões que aumentam o perfil AC (UDDU) levaram ao aumento da média de gerações com esiTumors em relação às simulações constantes, enquanto que padrões que reduzem o perfil AC (DUUD) reduziram os valores das médias (Figura 4.16). Neste caso, foi demonstrada a existência de uma correlação positiva entre os valores de perfil de AC e a média de gerações de esiTumors.

Em suma, nossos resultados sugerem a existência de uma característica intrínseca nos tecidos, a qual denominamos concentração de ancestrais, que, quando associada a mutações, amplifica as chances de acúmulo e fixação das mesmas, impactando no risco de tumores. Neste caso, tecidos com maior número de divisões de células tronco aumentam as chances de perpetuarem ancestrais mutados devido ao perfil de alta concentração de ancestrais, apresentando maior risco de desenvolver tumor; justificando, assim, parte da correlação positiva encontrada por Tomasetti and Vogelstein (2015).

## REFERÊNCIAS

- BELL, R. J. et al. Understanding TERT Promoter Mutations: A Common Path to Immortality. **Molecular Cancer Research**, v. 14, p. 315–323, 2016.
- BLASCO, M. A. Telomeres and Human Disease: Ageing, Cancer and Beyond. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, p. 611–622, 2005.
- DILLEY, R. L.; GREENBERG, R. A. ALternative Telomere Maintenance and Cancer. **Trends in cancer**, v. 1, p. 145–156, 2015.
- FEARON, E. R. Human Cancer Syndromes: Clues to the Origin and Nature of Cancer. **Science**, v. 278, p. 1043–1050, 1997.
- FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, v. 136, p. 359–386, 2015.
- GREAVES, M.; MALEY, C. C. Clonal evolution in cancer. **Nature**, v. 481, p. 306–313, 2012.
- HAYFLICK, L.; MOORHEAD, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. **Experimental cell research**, v. 25, p. 585–621, 1961.
- KAPLAN, E. L.; MEIER, P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457–481, 1958.
- KILLELA, P. J. et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. **PNAS**, v. 110, p. 6021–6026, 2013.
- LIU, T.; YUAN, X.; XU, D. Cancer-specific telomerase reverse transcriptase (TERT) promoter mutations: Biological and clinical implications. **Genes**, v. 7, 2016.
- MACIEJOWSKI, J.; LANGE, T. de. Telomeres in cancer: tumor suppression and genome instability. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 18, p. 175–186, 2017.
- MARTINCORENA, I. et al. Universal patterns of selection in cancer and somatic tissues. **Cell**, v. 171, p. 1029–1041, 2017.
- MAS-COLELL, A.; WHINSTON, M. D.; GREEN, J. R. **Microeconomic Theory**. New York, NY: Oxford University Press, 1995.
- MINUSSI, D. C. **Oncoprosim : uma ferramenta *in silico* para análise da evolução tumoral**. Dissertação de Mestrado — UFRGS, 2015.
- MINUSSI, D. C. et al. esiCancer: Evolutionary *in silico* Cancer Simulator. Disponível mediante solicitação.
- NOWELL, P. C. The clonal evolution of tumor cell populations. **Science**, v. 194, p. 23–28, 1976.
- REYA, T. et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**, v. 414, p. 105–111, 2001.

- SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer Statistics, 2017. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 67, p. 7–30, 2017.
- SOBINOFF, A. P.; PICKETT, H. A. Alternative lengthening of telomeres: DNA repair pathways converge. **Trends in genetics**, v. 33, p. 921–932, 2017.
- STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, A. The Cancer Genome. **Nature**, v. 458, p. 719–724, 2009.
- TOMASETTI, C.; LI, L.; VOGELSTEIN, B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. **Science**, v. 355, p. 1330–1334, 2017.
- TOMASETTI, C.; VOGELSTEIN, B. Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions. **PNAS**, v. 110, p. 1999–2004, 2015.
- TOMASETTI, C.; VOGELSTEIN, B.; PARMIGIANI, G. Half or more of the somatic mutations in cancers of self-renewing tissues originate prior to tumor initiation. **Science**, v. 339, p. 1546–1558, 2013.
- VINEIS, P.; WILD, C. P. Global cancer patterns: causes and prevention. **Lancet**, v. 383, p. 549–557, 2014.
- VISVADER, J. E. Cells of origin in cancer. **Nature**, v. 469, p. 314–322, 2011.
- VOGELSTEIN, B. et al. Cancer Genome Landscapes. **Science**, v. 339, p. 1546–1558, 2013.
- WU, S. et al. Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. **Nature**, v. 529, p. 43–47, 2016.

## APÊNDICE A — MATERIAL SUPLEMENTAR

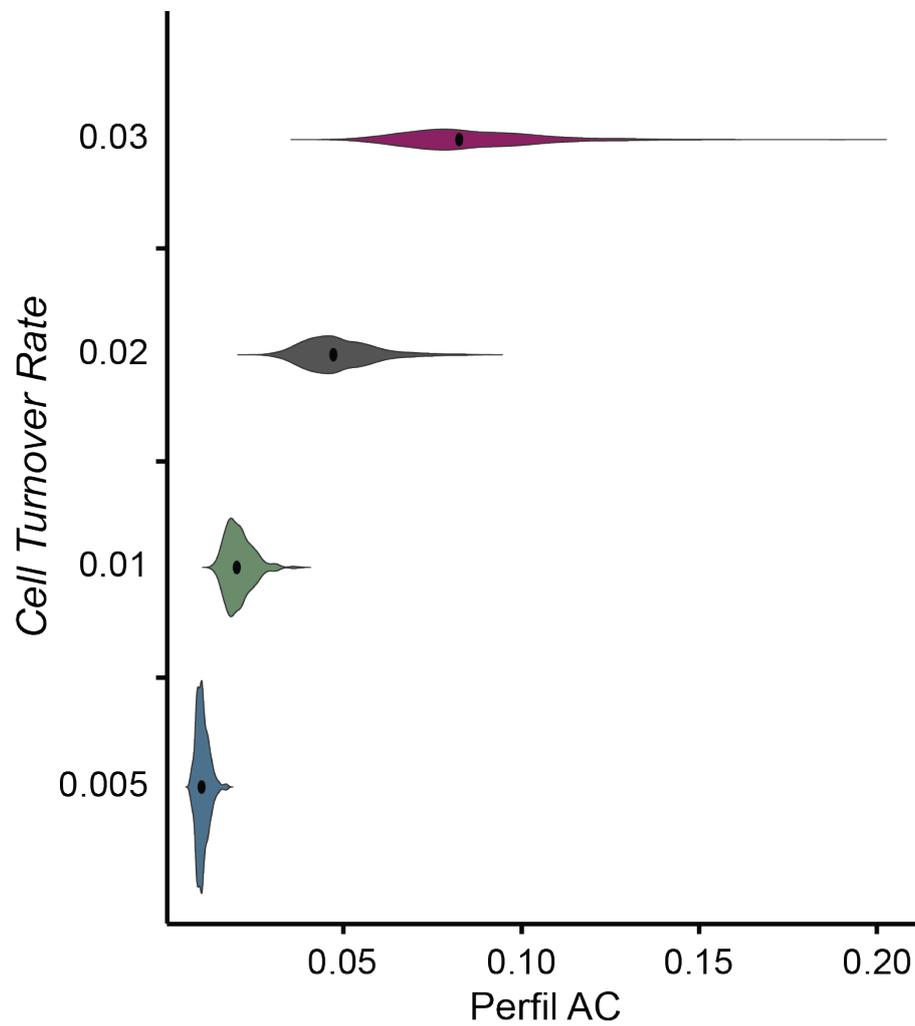


Figura S1: **Perfil da Concentração de Ancestrais com 20 mutações.** Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. **Média±DesvPad:** 0.01±0.002, 0.021±0.004, 0.049±0.01 e 0.086±0.019

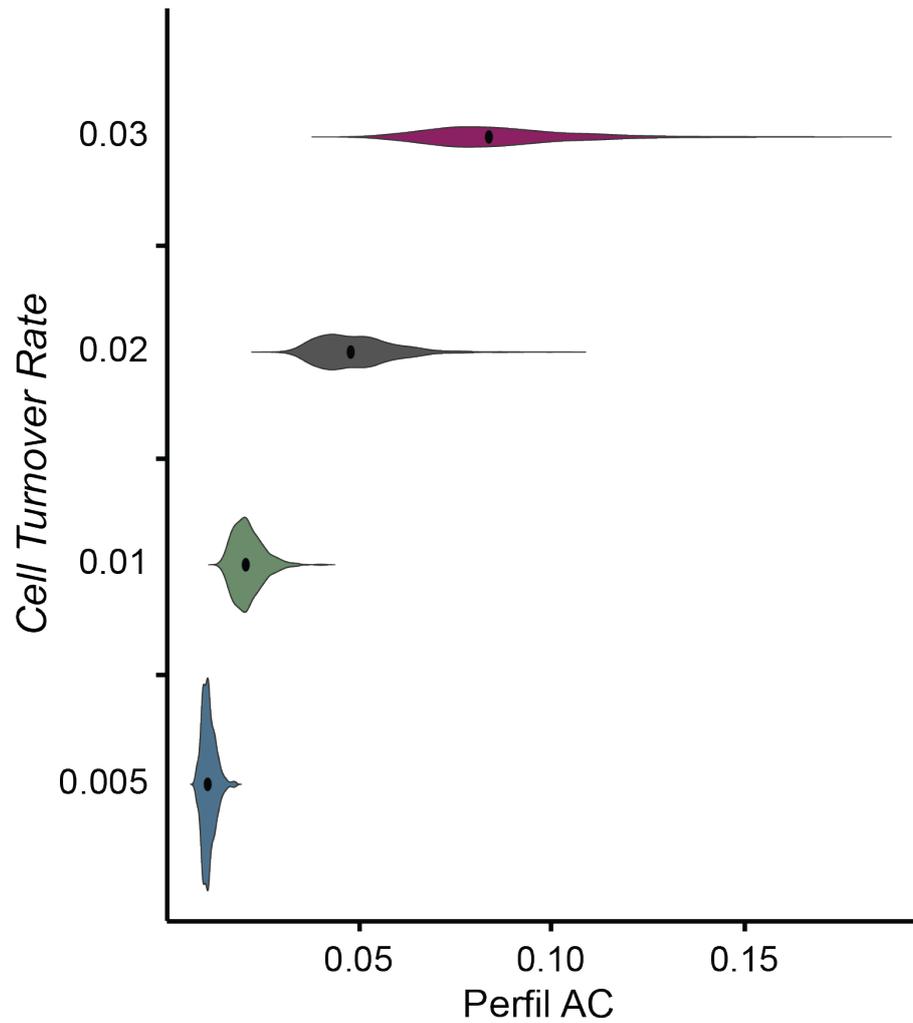


Figura S2: Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de  $\approx 110000$  mutações. Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. Média $\pm$ DesvPad:  $0.01\pm 0.002$ ,  $0.02\pm 0.004$ ,  $0.047\pm 0.01$  e  $0.083\pm 0.02$

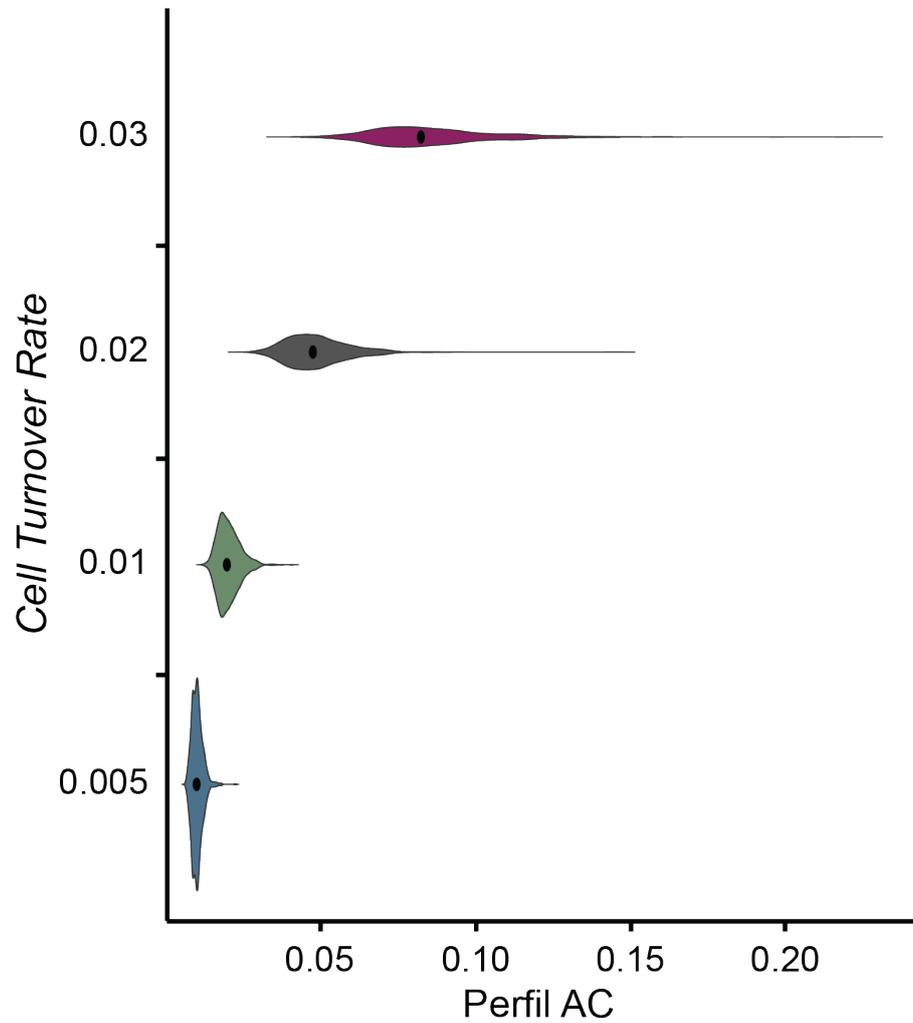


Figura S3: Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de  $\approx 600000$  mutações. Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. Média $\pm$ DesvPad: 0.01 $\pm$ 0.002, 0.02 $\pm$ 0.004, 0.048 $\pm$ 0.011 e 0.083 $\pm$ 0.021

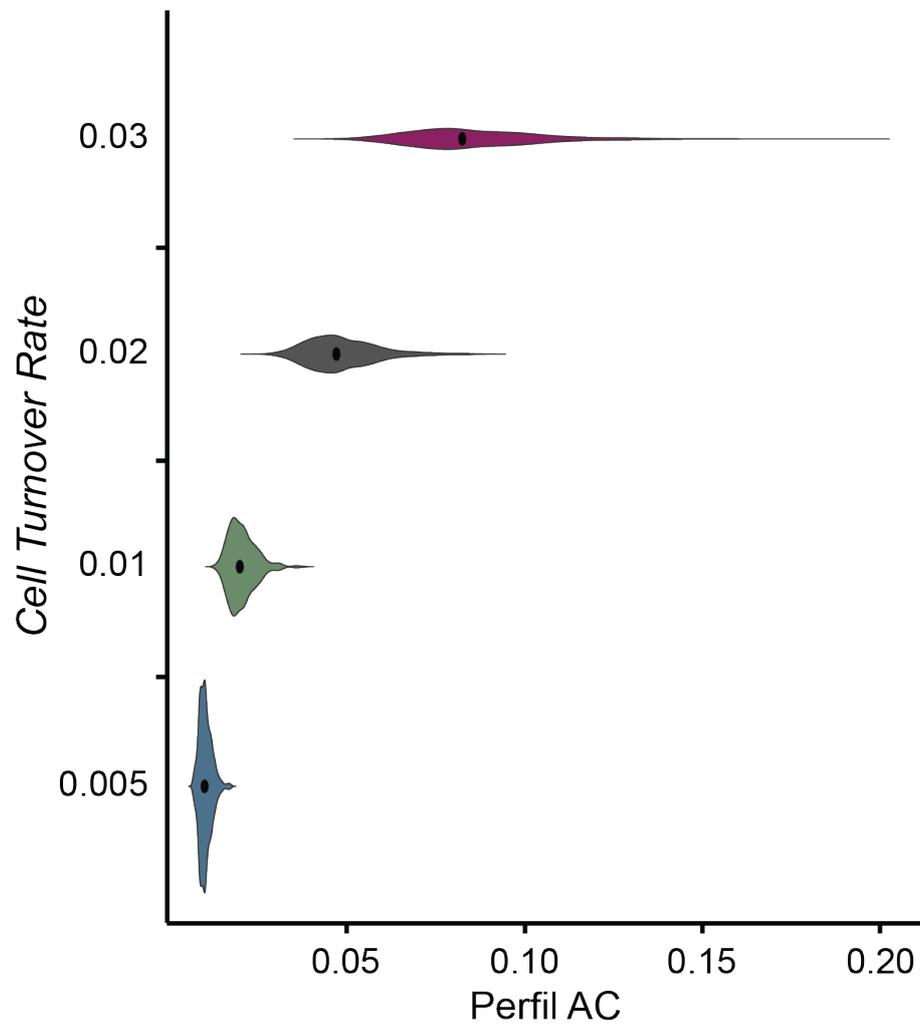


Figura S4: **Perfil da Concentração de Ancestrais com 20 mutações e máximo de 50 divisões por célula.** Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. **Média±DesvPad:** 0.01±0.002, 0.021±0.004, 0.049±0.01 e 0.086±0.019

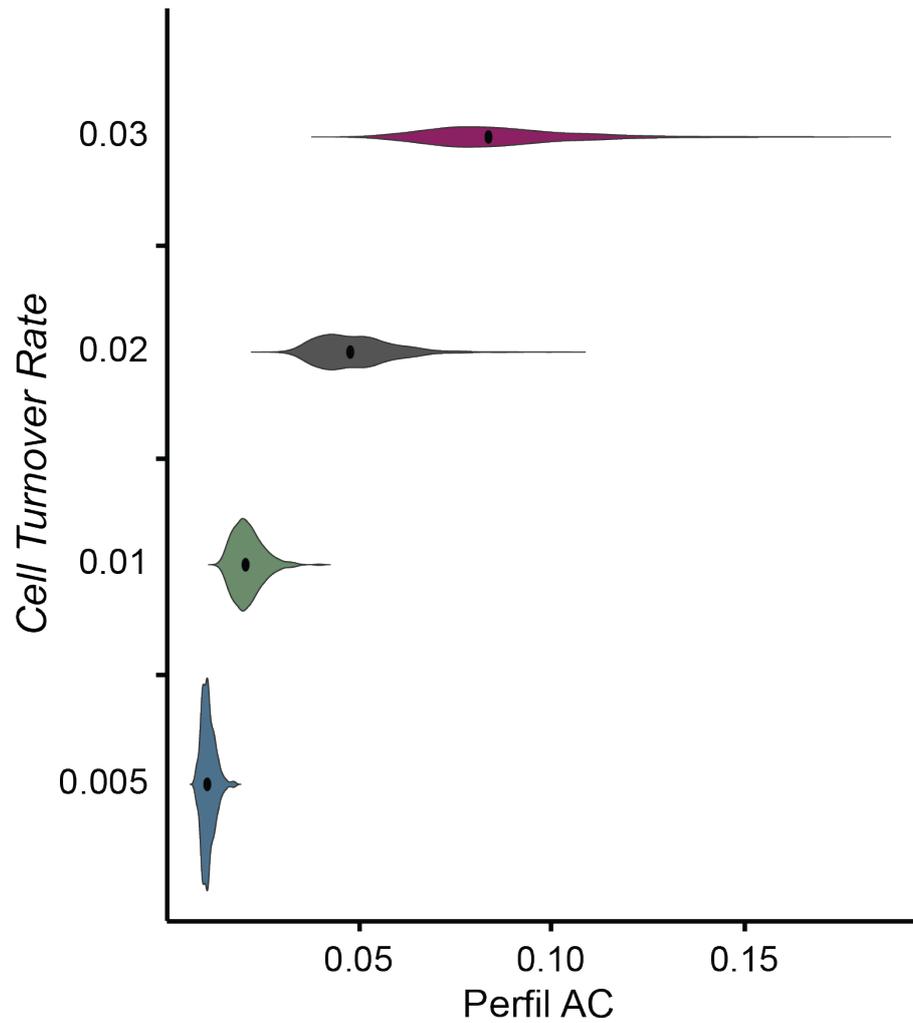


Figura S5: Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de  $\approx 110000$  mutações e máximo de 50 divisões por célula. Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. Média $\pm$ DesvPad:  $0.01\pm 0.002$ ,  $0.02\pm 0.004$ ,  $0.047\pm 0.01$  e  $0.083\pm 0.02$

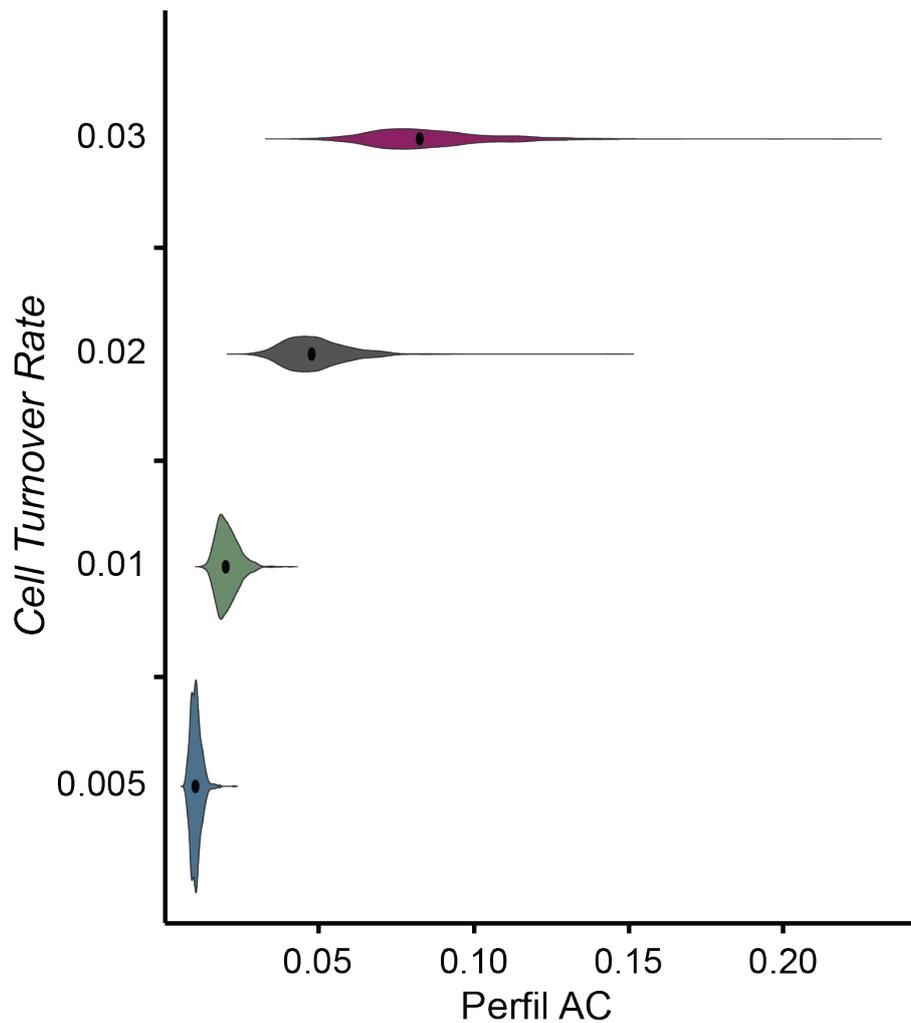


Figura S6: Perfil da Concentração de Ancestrais com mutações corrigidas para um total de  $\approx 600000$  mutações e máximo de 50 divisões por célula. Perfil AC de populações de células com diferentes *CTORs*. Média $\pm$ DesvPad:  $0.01\pm 0.002$ ,  $0.02\pm 0.004$ ,  $0.048\pm 0.011$  e  $0.083\pm 0.021$



## Mariana dos Santos Oliveira

Bolsista de Mestrado do CNPq

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1264332899462052>

Última atualização do currículo em 18/12/2017

Atualmente é aluna de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). **(Texto informado pelo autor)**

### Identificação

**Nome** Mariana dos Santos Oliveira   
**Nome em citações bibliográficas** OLIVEIRA, M. S.

### Endereço

### Formação acadêmica/titulação

**2017** Mestrado em andamento em Biologia Celular e Molecular (Conceito CAPES 6).  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil. Orientador:  Guido Lenz.  
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

**2012 - 2016** Graduação em Biotecnologia - Bioinformática.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.  
com **período sanduíche** em Rochester Institute of Technology (Orientador: Nicolas Maillard).  
Título: Identificação de padrões conformacionais em estruturas experimentais e projeto de meta-heurísticas para a predição da estrutura tridimensional de proteínas..  
Orientador: Marcio Dorn.

**2009 interrompida** Graduação interrompida em 2011 em Nutrição.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.  
Ano de interrupção: 2011

### Atuação Profissional

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.**

**Vínculo institucional**

**2015 - 2016** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Laboratório de Bioinformática Estrutural e Biologia Computacional - Instituto de Informática - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Vínculo institucional**

**2013 - 2013** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica Voluntária, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo - Núcleo de Bioinformática Departamento de Bioquímica Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Vínculo institucional**

**2012 - 2013** Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo - Núcleo de Bioinformática Departamento de Bioquímica Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Atividades**

**08/2016 - Atual**

Estágios , Instituto de Biociências, Departamento de Biofísica.  
Estágio realizado  
Estágio Curricular - Bioinformática.

**Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, FAPERGS, Brasil.**

**Vínculo institucional**

**2013 - 2013**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo - Núcleo de Bioinformática Departamento de Bioquímica Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Vínculo institucional**

**2011 - 2012**

Vínculo: Iniciação Científica, Enquadramento Funcional: Bolsista, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Laboratório de Hepatologia Experimental e Fisiologia

**Hospital de Clínicas de Porto Alegre, HCPA, Brasil.**

**Vínculo institucional**

**2011 - 2012**

Vínculo: Iniciação Científica, Enquadramento Funcional: Bolsista, Carga horária: 20, Regime: Dedicção exclusiva.

**Outras informações**

Laboratório de Hepatologia Experimental e Fisiologia

**Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.**

**Vínculo institucional**

**2014 - 2014**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Aluno Graduação - Ciencia Sem Fronteiras

## Projetos de pesquisa

**2011 - 2013**

O EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE SILDENAFIL EM MODELO DE CIRROSE INDUZIDA POR TETRACLORETO DE CARBONO  
Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.

**2010 - 2014**

Integrantes: Mariana dos Santos Oliveira - Integrante / Norma Posa Marroni - Coordenador / Alexandre Simões Dias - Integrante / Renata Salatti Ferrari - Integrante.  
A melatonina protege o fígado da lesão induzida por tetracloreto de carbono em ratos - Estudo da fibrose hepática  
Situação: Em andamento; Natureza: Pesquisa.  
Alunos envolvidos: Graduação: (1) / Doutorado: (2) .

Integrantes: Mariana dos Santos Oliveira - Integrante / Silvia Bona - Integrante / Norma Posa Marroni - Coordenador / Sabrina A. Fernandes - Integrante / Alexandre Simões Dias - Integrante.

## Idiomas

**Inglês**

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

**Espanhol**

Compreende Bem, Fala Razoavelmente, Lê Bem, Escreve Razoavelmente.

## Produções

### Produção bibliográfica

### Capítulos de livros publicados

1. BONA, S. ; MOREIRA, A. J. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; MARRONI, C. A. ; MARRONI, N.P. . Cirrose Hepática induzida por tetracloreto de carbono: modelo inalatório e intraperitoneal.. In: Norma Posa Marroni; Maria Isabel Morgan-Martins; Marilene Porawski. (Org.). (Org.). Radicais Livres no processo Saúde-Doença: da bancada à clínica. 1eded.Curitiba: PR: CRV, 2012, v. , p. 39-50.

## Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1. **OLIVEIRA, M. S.**; BORGUESAN, B. ; DORN, M. . SADE-SPL: A Self-Adapting Differential Evolution algorithm with a loop Structure Pattern Library for the PSP problem (Aceito para Apresentação). In: IEEE Congress on Evolutionary Computation, 2017, San Sebastián. Proceedings of the IEEE Congress on Evolutionary Computation (IEEE CEC 2017), 2017.

## Apresentações de Trabalho

1. **OLIVEIRA, M. S.**; DORN, M. ; BORGUESAN, B. . IDENTIFICAÇÃO DE PADRÕES CONFORMACIONAIS EM ESTRUTURAS EXPERIMENTAIS E PROJETO DE META-HEURÍSTICAS PARA A PREDIÇÃO DA ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL DE PROTEÍNAS.. 2016. (Apresentação de Trabalho/Outra).
2. **OLIVEIRA, M. S.**; DORN, M. . DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS E ESTRATÉGIAS COMPUTACIONAIS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE PADRÕES CONFORMACIONAIS EM PROTEÍNAS. 2015. (Apresentação de Trabalho/Outra).
3. MOREIRA, J. C. F. ; SARTOR, I. S. ; DALMOLIN, R. J. S. ; CASTRO, M. A. A. ; ALBANUS, R. D. ; ZEIDAN-CHULIA, F. ; **OLIVEIRA, M. S.** . REGULADORES MESTRES DA REDE TRANSCRICIONAL DE CÂNCER PANCREÁTICO. 2013. (Apresentação de Trabalho/Outra).
4. MAZULLO FILHO, J. B. R. ; DIAS, A. S. ; FORGIARINI JUNIOR, L. A. ; ROSA, D. P. ; BONA, S. ; SILVA, F. G. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; MARRONI, N.P. . Avaliação do estresse Oxidativo em Pacientes Submetidos a Ventilação Mecânica Invasiva. 2012. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
5. BONA, S. ; ROSA, D. P. ; MARTINEZ, D. ; FORGIARINI, L. F. ; SILVA, M.B. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; FIORI, C. ; MARRONI, N.P. . Liver inflammation and apoptosis caused by intermittent hypoxia in sleep apnea and use of antioxidants. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
6. BONA, S. ; DI NASO, F.C. ; FILLIPIN, L.I. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; MOREIRA, A. J. ; XAVIER, R.M. ; FERNANDES, S. A. ; MARRONI, N.P. . Antioxidant protection of quercetin in hepatic oxidative damage in cirrhotic rats. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
7. MARRONI, N.P. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; RODRIGUES, G. ; BONA, S. ; MOREIRA, A. J. ; PICADA, J. . Ação da Simvastatina sobre a Lipoperoxidação e Genotoxicidade em Modelo de Esteato-Hepatite Não Alcoólica. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
8. MARRONI, N.P. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; FERNANDES, S. A. ; BONA, S. ; DIAS, A. S. ; FERRARI, R. S. ; MARRONI, C. A. ; SCHENDLER, F. . O Ângulo de Fase como fator Prognóstico e sua Correlação com o Zinco e a Ação da Melatonina em Ratos Cirróticos. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
9. FERNANDES, S. A. ; BONA, S. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; CERSKI, C. T. S. ; HARTER, D. L. ; MARRONI, N.P. ; MARRONI, C. A. . ASPECTOS ESTRUTURAIS DE PAPILAS GUSTATIVAS E ANÁLISE DA CAPACITÂNCIA CELULAR POR BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA DE RATOS CIRRÓTICOS.. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
10. BONA, S. ; MOREIRA, A. J. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; FERNANDES, S. A. ; MEURER, L. ; CERSKI, C. T. S. ; MARRONI, C. A. ; MARRONI, N.P. . CARACTERIZAÇÃO DO MODELO EXPERIMENTAL DE CARCINOMA HEPATOCELULAR POR INDUÇÃO QUÍMICA EM RATOS. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
11. **OLIVEIRA, M. S.**; FERNANDES, S. A. ; BONA, S. ; FERRARI, R. S. ; SCHENDLER, F. ; DIAS, A. S. ; MARRONI, C. A. ; MARRONI, N.P. . UTILIZAÇÃO DO ÂNGULO DE FASE COMO FATOR PROGNÓSTICO EM RATOS CIRRÓTICOS. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
12. **OLIVEIRA, M. S.**; FERNANDES, S. A. ; BONA, S. ; MOREIRA, A. J. ; CERSKI, C. T. S. ; MARRONI, C. A. ; MARRONI, N.P. . ASPECTOS ESTRUTURAIS DE PAPILAS GUSTATIVAS E ANÁLISE DA CAPACITÂNCIA CELULAR POR BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA DE RATOS CIRRÓTICOS. 2012. (Apresentação de Trabalho/Outra).
13. MARRONI, N.P. ; Claudio Augusto Marroni ; BONA, S. ; DI NASO, F.C. ; SILVA, M.B. ; **OLIVEIRA, M. S.** . Ação Hepatoprotetora da Quercetina em Ratos com Cirrose Induzida. 2011. (Apresentação de Trabalho/Outra).
14. MARRONI, N.P. ; BONA, S. ; DI NASO, F.C. ; FILLIPIN, L.I. ; Claudio Augusto Marroni ; XAVIER, R.M. ; SILVA, M.B. ; **OLIVEIRA, M. S.** . Proteção Antioxidante da Quercetina no Dano Oxidativo Hepático em Ratos Cirróticos. 2011. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
15. MARRONI, N.P. ; FERNANDES, S. A. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; BONA, S. ; SCHEMITT, E. G. . Aspectos Estruturais de Papilas Gustativas de Ratos Cirróticos. 2011. (Apresentação de Trabalho/Outra).
16. MARRONI, N.P. ; FERNANDES, S. A. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; SILVA, M.B. . Aspectos Estruturais de Papilas Gustativas e Análise de Capacitância Celular por Bioimpedância Elétrica de Ratos Cirróticos. 2011. (Apresentação de Trabalho/Outra).
17. MARRONI, N.P. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; FERNANDES, S. A. ; BONA, S. . Aspectos Estruturais de Papilas Gustativas de Ratos Cirróticos. 2011. (Apresentação de Trabalho/Outra).
18. MARRONI, N.P. ; **OLIVEIRA, M. S.** ; BONA, S. . Efeito Terapêutico da Quercetina em Ratos Cirróticos Induzidos por Tetracloreto de Carbono.. 2011. (Apresentação de Trabalho/Outra).

## Eventos

### Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1. EGB 2015 - 1 Escola Gaúcha de Bioinformática. 2015. (Outra).
2. Product Show sobre Análise de PCR em tempo Real e HRM (High Resolution). 2012. (Outra).
3. Mostra dos Novos Nutricionistas da UFRGS. 2010. (Outra).
4. 1º Seminário Estadual Sobre Risco Nutricional. 2009. (Seminário).
5. Curso de Extensão Nutrição e Fitoterápicos. 2009. (Seminário).

6. III Mostra de Pesquisa das Nutricionistas da UFRGS. 2009. (Outra).
7. I MOSTRA DE TRABALHOS DE CONCLUSÃO DE CURSO - NUTRIÇÃO/UFRGS. 2009. (Outra).

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 08/02/2018 às 11:12:25

[Imprimir currículo](#)