

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO – GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL DE CARCINOMA ENDOMETRIAL DO CORPO UTERINO POR MEIO DE ANÁLISE *IN SILICO*

Differential gene expression of endometrial carcinoma of the uterine corpus by *in silico* analysis

Déborah Diniz Barbosa Martins dos Santos¹

Kelly Cristina Rodrigues Simi²

RESUMO

O Câncer Endometrial do Corpo Uterino (UCEC) está entre os tumores malignos ginecológicos mais comuns e com mau prognóstico em alguns subtipos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar a expressão gênica diferencial *in silico* dos subtipos endometriode, seroso e misto de UCEC e propor alvos moleculares com potencial terapêutico, de diagnóstico e de prognóstico. A análise revelou 250 genes mais diferencialmente expressos, seja por *up-* ou *down-*regulação, gerados pela plataforma UALCAN, cuja interseção para os três subtipos apresentou 98 e 189 genes *up-* e *down-*regulados, respectivamente. Os genes TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 (*up-*regulados), e DPT e OGN (*down-*regulados) foram caracterizados como potenciais alvos terapêuticos ou biomarcadores no diagnóstico e no prognóstico de UCEC, essenciais para desenvolver estratégias terapêuticas mais eficazes e personalizadas. Além disso, o perfil de metilação de promotores mostrou que a hipometilação de genes *up-*regulados contribuiu para a progressão tumoral, necessitando de validação e exploração clínica futura.

Palavras-chave: câncer endometrial do corpo uterino; genes diferencialmente expressos; bioinformática; vias de sinalização; metilação de promotores.

ABSTRACT

Endometrial Cancer of the Uterine Corpus (UCEC) is among the most common gynecological malignancies and has a poor prognosis in some subtypes. Therefore, the objective of this study was to analyze the differential gene expression *in silico* of the endometrioid, serous, and mixed subtypes of UCEC and to propose molecular targets with therapeutic, diagnostic and prognostic potential. The analysis revealed 250 genes that were most differentially expressed, either by *up-* or *down-*regulation, generated by the UALCAN platform, whose intersection for the three subtypes showed 98 and 189 *up-* and *down-*regulated genes, respectively. The genes TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME, and CDC20 (*up-*regulated), and DPT and OGN (*down-*regulated) were characterized as potential therapeutic targets or biomarkers for the diagnosis and prognosis of UCEC, essential for developing more effective and personalized therapeutic strategies. Furthermore, promoter methylation profiling showed that hypomethylation of *up-*regulated genes contributed to tumor progression, requiring validation and future clinical exploration.

Keywords: endometrial cancer of the uterine corpus; differentially expressed genes; bioinformatics; signaling pathways; promoter methylation.

¹Graduanda do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

² Professora do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma patologia insidiosa que tem se tornado mais frequente no século XXI, se comparada ao século passado. Antigamente, a taxa de letalidade devido às doenças infecciosas era alta, o que resultava numa baixa expectativa de vida para o desenvolvimento do câncer. Todavia, sua incidência tem aumentado, provavelmente, pela mudança no estilo de vida e pelo aumento da longevidade. Logo, quando o sistema imunológico está suprimido, isto é, a resposta antitumoral acontece de forma lenta, como no envelhecimento ou no estresse crônico, por exemplo, o risco para essa doença se torna progressivo (ROY; SAIKIA, 2016).

O câncer pode ser uma doença hereditária, contudo, é prioritariamente genético, pois é causado por influência de fatores ambientais e mutações. Devido a fatores externos que são capazes de causar modificações na conformidade da molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA), as células somáticas que se multiplicam por mitose sofrem mutações. Essas mutações alteram a organização dos genes no pareamento das bases nitrogenadas, que por sua vez, caracterizam-se em estruturas irregulares e proliferação desordenada, embora o estímulo que as provocaram tenha terminado. Assim, devido à multiplicação celular, o tumor é formado (PRADO, 2014).

Muitas dessas células são capazes de induzir uma resposta anti-inflamatória, resultando num escape tumoral. Além disso, decorrente da metástase, as células cancerosas são capazes de invadir novos tecidos pela corrente sanguínea ou vasos linfáticos e formar angiogênese para supri-las no tecido alvo. Para tanto, estimulam a síntese de enzimas digestivas que degradam as células e o conteúdo extracelular próximo, percorrendo pelos vasos até chegarem a um tecido apropriado para sua proliferação, expressando proteínas de superfície que recrutam a ligação de novas células e invasão do tecido (BRUNO et al., 2020).

Quando são capazes de atingir os tecidos, como por exemplo o útero, as células podem sofrer lesões pré-cancerosas até chegarem à via carcinogênica, como hiperplasia complexa, possivelmente com atipia, por influência de hiperestrogenismo em 80% dessas lesões, caracterizando essas neoplasias do tipo endometriode no câncer endometrial do corpo uterino (UCEC). Além disso, o elevado número de ciclos anovulatórios, nuliparidade, menopausa tardia, obesidade e terapia hormonal com estrogênio não associada a progestágenos estão relacionados aos fatores de risco desse tipo. Por outro lado, os subtipos seroso e misto são estrogênio independentes, ou seja, estão associados a fatores tais como a má diferenciação e a menopausa, mas não à hiperplasia prévia ou displasia do endométrio (CASERTA et al., 2022).

O microambiente tumoral (MAT) é caracterizado por células infiltrantes do estroma e do sistema imunológico para imunomodulação na biologia do câncer. No UCEC, o MAT é representado principalmente por apresentar ativação de células T devido à expressão de alguns genes, embora a expressão de outros se correlacione positivamente com o tumor por infiltração de células B, células T CD8+, células T CD4+, macrófagos e células dendríticas, com base em perfis de expressão de dados sequenciamento do transcriptoma de alto desempenho (RNA-Seq). Isso sugere uma base para o desenvolvimento de novos biomarcadores para progressão na resposta. Além disso, relatou-se que por haver uma maior concentração de células imunes no MAT do carcinoma endometrial endometriode, isso contribui para um bom prognóstico, o que não ocorre nos subtipos seroso e misto (CHEN et al., 2020).

O útero é um órgão muscular, com formato de pera invertida, o qual ocorre o desenvolvimento embrionário e fetal, assim que houver o processo de ovulação e o ovócito II, liberado pelo ovário, for fecundado. Esse processo resulta da ovogênese, que se inicia antes do nascimento e perdura até a menopausa. Dessa forma, com a nidação, implantação da blástula dentro do útero, a gestação inicia-se. É no endométrio, camada mais interna do útero, que isso acontece (EDUARDO; MEZZOMO, 2022).

Por sua vez, sabe-se que o endométrio pode sofrer impactos por influência de fatores externos, como é o caso do tabagismo, causando a atrofia do órgão. No entanto, há uma associação inversa do câncer endometrial com o estrogênio e o tabagismo, visto que o fumo reduz a síntese local de estrogênio, embora o impacto dele seja negativo e correspondente à causa de outros carcinomas. Além disso, estudos mostraram que a dieta e atividade física são fatores externos que influenciam diretamente no estilo de vida e estão associados ao bom prognóstico do UCEC (BARON et al., 2021; PORIETIS et al., 2023).

Esses fatores podem ser determinantes epigenéticos, explicados pela regulação da expressão dos genes por metilação do DNA, acesso à cromatina, modificação de histonas, interações DNA-proteínas e arquitetura tridimensional da cromatina, sem alterar a sequência de DNA, atuando na evolução do câncer. Apesar de os tumores serem sistemas biológicos altamente complexos e heterogêneos, pois cada um se comporta de maneira individual para progressão do câncer, o desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento epigenéticos contribuem para progressos na exploração da heterogeneidade tumoral como heterogeneidade clonal, MAT, organização espacial, diferenciação intratumoral, metástases e mecanismos de resistência (PELAEZ; COSTA; ESTELLER, 2022).

Devido ao desenvolvimento contínuo da tecnologia de bioinformática, muitos métodos têm sido empregados para definir biomarcadores. Essas assinaturas gênicas ampliam as investigações sobre os mecanismos moleculares em bancos de dados *online*. Para tanto, o UALCAN (Portal de análise de dados Câncer da Universidade de Alabama em Birmingham) é uma plataforma que evidencia a análise dos Genes Diferencialmente Expressos (DEGs) nos subtipos de câncer, bem como na expressão aumentada (*up-regulados*) ou reduzida (*down-regulados*). Dessa maneira, a análise é feita por quantificação transcritos (mRNA) obtida por sequenciamento do transcriptoma de alto desempenho (RNA-Seq) para comparação da expressão gênica entre o tecido tumoral e o tecido saudável (YANG; YU; SUN, 2020).

O UCEC é um tumor maligno ginecológico bastante comum que se caracteriza num quadro clínico heterogêneo, com baixa taxa de sobrevivência e mau prognóstico em alguns subtipos, além de apresentar uma média estatística de 55 anos. Assim, para esses subtipos metastáticos, ainda que tratados com terapias convencionais, a doença causa mortalidades significativas, diminuindo a porcentagem da sobrevida de 5 anos. Com o intuito de analisar a relação entre o microambiente tumoral e as assinaturas gênicas, é necessário identificar biomarcadores para UCEC com potencial prognóstico e alvos terapêuticos, uma vez que o MAT tem impacto no crescimento do tumor, na quimiorresistência e nos resultados clínicos (LIU et al., 2021).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar a expressão gênica diferencial *in silico* dos subtipos endometriode, seroso e misto de UCEC e propor alvos moleculares com potencial terapêutico, de diagnóstico e de prognóstico.

2 MÉTODO

2.1 Seleção dos dados e análise da expressão gênica

A análise da expressão gênica diferencial (DEG) é uma das técnicas mais utilizadas para análise de dados de RNA-Seq. Esta ferramenta, segundo Rosati et al. (2024), permite a identificação de genes expressos diferencialmente em dois ou mais conjuntos de amostras. Os genes podem ser diferencialmente expressos quando houver diferença nos índices de expressão entre duas condições e isso for estatisticamente relevante. Consequentemente, a análise dessa disparidade é significativa para elucidar a divergência biológica entre indivíduos saudáveis e doentes, ou entre diferentes condições patológicas, como nas comparações entre subtipos de um câncer específico (ANJUM et al., 2016).

Para a seleção dos conjuntos de dados de DEGs foi utilizada a plataforma UALCAN (<https://ualcan.path.uab.edu/>). Esta plataforma é um repositório *online* e interativo, o qual utiliza dados disponíveis no Atlas do Genoma Humano (TCGA) nível 3 (processado e pronto para análise de alto nível) de RNA-Seq de tipos de câncer. Isso permitiu a identificação de DEGs para obter a expressão gênica em tecidos neoplásicos e normais, bem como a análise dos subtipos do câncer selecionado (BORON et al., 2022).

Para a obtenção desses dados, os cânceres endometriais do corpo uterino dos subtipos endometriode, seroso e misto foram selecionados. Em seguida, foi possível explorar as características de cada gene diferentemente expresso descritas no UALCAN, no qual o valor de $p < 0,001$ foi considerado estatisticamente significativo, gerando um arquivo formato .csv para filtragem dos dados com os 250 genes diferencialmente expressos tanto *up*- quanto *down*-regulados, quando comparados com o tecido saudável. Além disso, também foram informados os genes de interesse, sendo a plataforma capaz de fornecer dados como expressão *pan-cancer* (no formato de diagrama de caixa - *boxplot*) dos genes possivelmente correlatos e outros *links* que direcionam a bancos de dados que possuem informações complementares.

Essa plataforma identificou os principais genes *up*- e *down*-regulados (regulados para cima e para baixo) em tipos individuais de câncer, baseado no transcriptoma, conjunto de transcrições presentes em um momento específico em uma célula ou tecido. Os mapas de calor (*heatmap*) evidenciaram o nível de expressão diferencial dos genes nas amostras normais e tumorais, enquanto os gráficos *boxplot* (diagrama de caixa) correlacionaram a expressão gênica com os dados de comparação entre o tecido normal e tumoral, os tipos histológicos e o nível de metilação da região promotora. Os gráficos de Kaplan-Meier compararam a expressão gênica com os dados de sobrevivência, o que viabilizou a identificação de possíveis marcadores moleculares (CHANDRASHEKAR et al., 2017).

2.2 Construção do Diagrama de Venn

Os diagramas de Venn foram utilizados para obter a interseção entre os genes *up*-regulados e *down*-regulados quando comparados os três tipos de UCEC, feitos um por vez para melhor organização. Eles foram projetados por meio da plataforma *Interactive Venn* (<https://www.interactivenn.net>) com os conjuntos de dados dos DEGs adquiridos pelo UALCAN (HEBERLE et al., 2015).

2.3 Análise de processos celulares

Com o intuito de compreender as vias de sinalização dos genes *up*- e *down*-regulados compartilhados entre os três subtipos de UCEC, utilizou-se a base de conhecimento *Reactome* (<https://reactome.org/>). O *Reactome* fornece informações detalhadas sobre processos fisiológicos e biológicos, permitindo a visualização de vias enriquecidas com base nos genes fornecidos (JASSAL et al., 2020). Foram utilizados como entrada de dados para cada subgrupo os 250 genes identificados pela plataforma UALCAN.

2.4 Perfil de metilação

Como critério para avaliar o perfil de metilação, foram selecionados no UALCAN os genes mais *up*-regulados mais promissores da interseção dos três subtipos de UCEC. Assim, foram gerados gráficos que expressam o nível de metilação da região promotora desses genes, os quais indicam se o gene é hipo- ou hipermetilado em comparação ao tecido normal e o tumor primário.

2.5 Detecção dos produtos gênicos por imunohistoquímica

Para verificar se os genes selecionados como possíveis biomarcadores têm seus produtos proteicos detectáveis por imunohistoquímica, foi utilizada a plataforma “O Atlas de Proteína Humana” (*The Human Protein Atlas* - THPA, disponível em <https://www.proteinatlas.org/>), mais especificamente a seção patologia, a qual mostra dados de expressão de mRNA em diferentes cânceres. O THPA é um programa com o objetivo de mapear todas as proteínas humanas em células, tecidos e órgãos usando uma integração de várias tecnologias ômicas, incluindo imagens baseadas em anticorpos, proteômica baseada em espectrometria de massa, transcriptômica e biologia de sistemas. Todos os dados do recurso de conhecimento são de acesso aberto (THPA, 2024). Para este trabalho, foram utilizadas imagens de imunohistoquímica de detecção de proteínas codificadas pelos genes selecionados em cortes de tecido de UCEC.

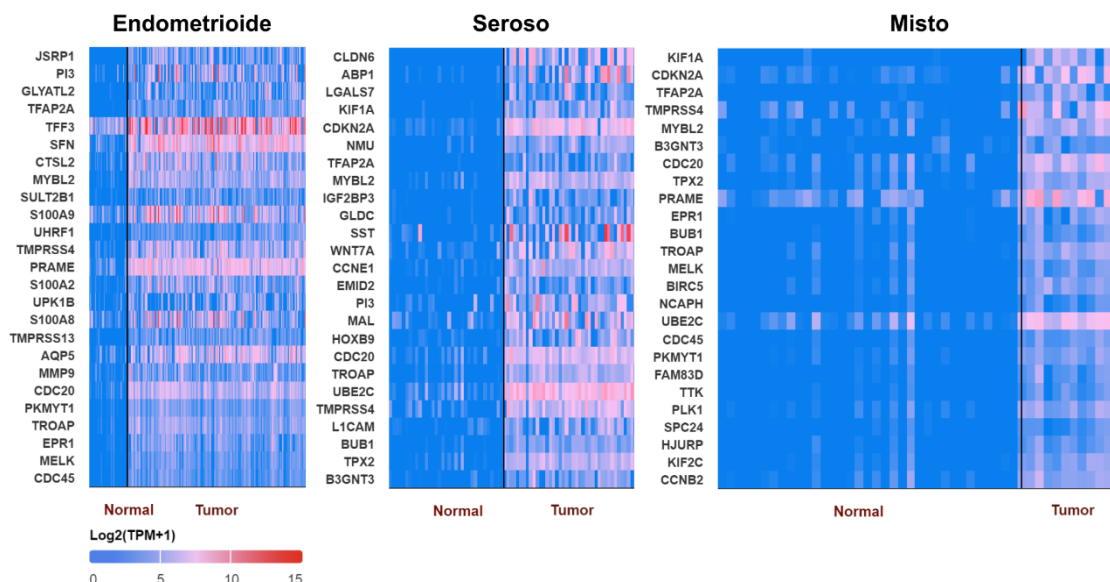
3 RESULTADOS

3.1 Análise global dos genes diferencialmente expressos em UCEC

Para avaliar os transcritos, ou seja, a expressão gênica, o sequenciamento adquirido é comparado a uma sequência genômica de referência estabelecida, permitindo análises estatísticas dos perfis dos genes. Genes diferencialmente expressos (DEGs) são identificados quando há uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de expressão entre duas condições, o que é relevante para elucidar a divergência biológica entre indivíduos saudáveis e doentes, ou entre diferentes condições patológicas, como nas comparações entre subtipos de um câncer específico (ANJUM et al., 2016). Com o propósito de investigar esses DEGs, foram utilizadas ferramentas computacionais como UALCAN e *Interactive Venn*, para obtenção e análise dos dados. O banco de dados UALCAN foi utilizado para identificar 250 genes *up*-regulados e 250 genes *down*-regulados apresentados na forma de gráfico de calor (*heatmap*) dos

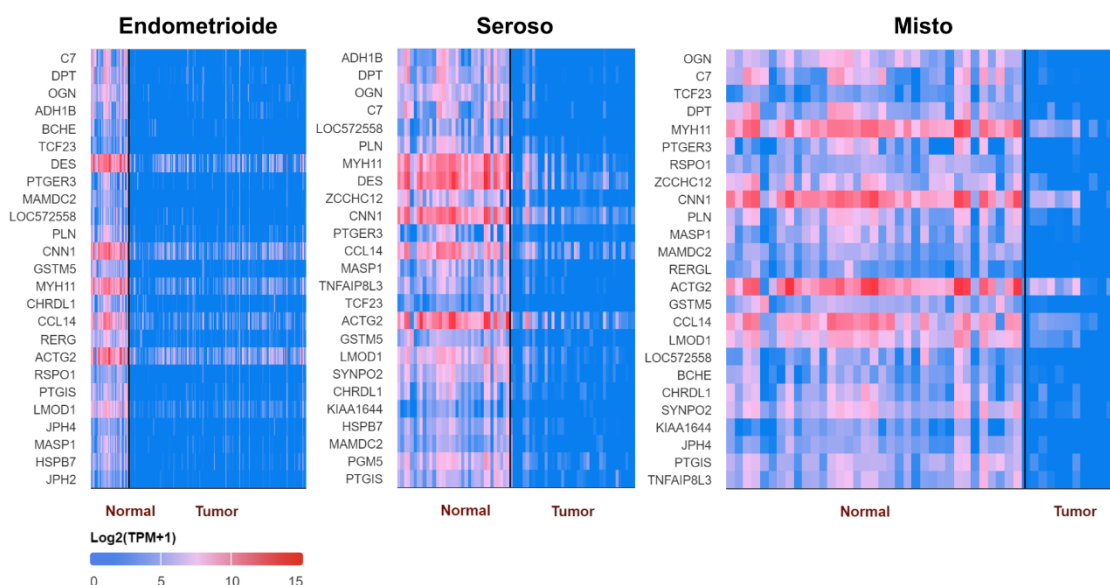
subtipos endometriode, seroso e misto de UCEC. Os 25 principais genes dessas listas foram destacados nas figuras 1 e 2.

Figura 1: Expressão diferencial dos 25 principais genes *up*-regulados do Câncer Endometrial do Corpo Uterino endometriode, seroso e misto.



Legenda: Representação de *heatmap* obtida por análise na plataforma UALCAN dos 25 principais genes diferencialmente *up*-regulados em Câncer Endometrial do Corpo Uterino endometriode (JSRP1, PI3, GLYATL2, TFAP2A, TFF3, SFN, CTSL2, MYBL2, SULT2B1, S100A9, UHRF1, TMPRSS4, PRAME, S100A2, UPK1B, S100A8, TMPRSS13, AQP5, MMP9, CDC20, PKMYT1, TROAP, EPR1, MELK, CDC45), seroso (CLDN6, ABP1, LGALS7, KIF1A, CDKN2A, NMU, TFAP2A, MYBL2, IGF2BP3, GLDC, SST, WNT7A, CCNE1, EMID2, PI3, MAL, HOXB9, CDC20, TROAP, UBE2C, TMPRSS4, L1CAM, BUB1, TPX2, B3GNT3) e misto (KIF1A, CDKN2A, TFAP2A, TMPRSS4, MYBL2, B3GNT3, CDC20, TPX2, PRAME, EPR1, BUB1, TROAP, MELK, BIRC5, NCAPH, UBE2C, CDC45, PKMYT1, FAM83D, TTK, PLK1, SPC24, HJURP, KIF2C, CCNB2).

Figura 2: Expressão diferencial dos 25 principais genes *down*-regulados do Câncer Endometrial do Corpo Uterino endometriode, seroso e misto.

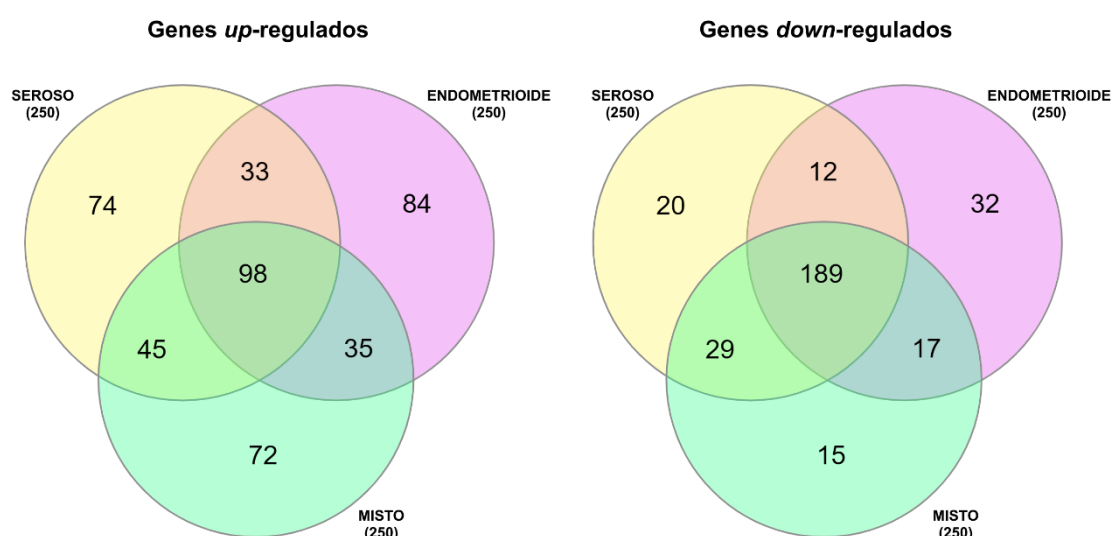


Legenda: Representação de *heatmap* obtida por análise na plataforma UALCAN dos 25 principais genes diferencialmente *down*-regulados em Câncer Endometrial do Corpo Uterino endometriode (C7, DPT,

OGN, ADH1B, BCHE, TCF23, DES, PTGER3, MAMDC2, LOC572558, PLN, CNN1, GSTM5, MYH11, CHRDL1, CCL14, RERG, ACTG2, RSPO1, PTGIS, LMOD1, JPH4, MASP1, HSPB7, JPH2), seroso (ADH1B, DPT, OGN, C7, LOC572558, PLN, MYH11, DES, ZCCHC12, CNN1, PTGER3, CCL14, MASP1, TNFAIP8L3, TCF23, ACTG2, GSTM5, LMOD1, SYNPO2, CHRDL1, KIAA1644, HSPB7, MAMDC2, PGM5, PTGIS) e misto (OGN, C7, TCF23, DPT, MYH11, PTGER3, RSPO1, ZCCHC12, CNN1, PLN, MASP1, MAMDC2, RERGL, ACTG2, GSTM5, CCL14, LMOD1, LOC572528, BCHE, CHRDL1, SYNPO2, KIAA1644, JPH4, PTGIS, TNFAIP8L3).

Posteriormente, o *Interactive Venn* foi utilizado para analisar a tabela de DEGs gerada pelo UALCAN, com o objetivo de identificar os genes que estavam regulados exclusivamente em um dos três subtipos do câncer endometrial, enquanto aqueles que não se enquadravam nessa condição estavam compartilhados entre os subtipos, conforme evidenciado na figura 3.

Figura 3: Interseção dos 250 genes *up*- e *down*-regulados do UCEC endometriode, seroso e misto.



Legenda: A figura 3 foi gerada pela ferramenta *Interactive Venn*, a partir da compilação dos dados de expressão gênica obtidos pelo UALCAN. Este Diagrama de Venn apresenta a interseção dos 250 genes *up*- e *down*-regulados nos três subtipos de Câncer Endometrial do Corpo Uterino.

Essa primeira etapa da análise teve como objetivo caracterizar a expressão gênica global dos três subtipos de câncer endometrial. Por meio do Diagrama de Venn (Figura 3), foi possível verificar que, dos 250 genes *up*-regulados, 74, 84 e 72 foram exclusivos de seroso, endometriode e misto, respectivamente; 33 fizeram interseção entre seroso e endometriode, 35 entre endometriode e misto, e 45 entre misto e seroso. A maioria dos genes, um total de 98, fizeram interseção com os três subtipos de câncer endometrial do corpo uterino.

No entanto, ao avaliar os genes *down*-regulados (Figura 3), verificou-se que, dos 250 genes analisados, 20, 32 e 15 foram exclusivos em seroso, endometriode e misto, respectivamente; 12 fizeram interseção entre seroso e endometriode, 17 entre endometriode e misto, e 29 entre misto e seroso. Além disso, encontrou-se uma interseção de 189 genes entre os três subtipos. Assim sendo, foi possível observar que nem todos os genes são específicos de um subtipo ou uma condição, visto que, devido à mesma origem, eles compartilham algumas vias de sinalização.

3.2 Análise de enriquecimento funcional de DEGs: processos celulares envolvidos

A lista dos 250 genes *up*- e *down*-regulados das análises dos três subtipos de câncer endometrial foi utilizada para avaliação dos processos celulares utilizando a base de dados do *Reactome*. Foram geradas imagens de enriquecimento das vias de sinalização, a partir da lista dos genes *up*- e *down*-regulados (Figuras A e B do Apêndice), nas quais as vias destacadas em amarelo representam aquelas associadas aos genes utilizados como entrada na análise. Essa análise foi realizada para investigar os processos biológicos nos quais os 250 genes *up*- e *down*-regulados selecionados estavam envolvidos. Para os genes *up*-regulados (Figura A do Apêndice) destacam-se as vias: replicação de DNA, transcrição, ciclo celular, expressão de genes dependente de estrógeno, metabolismo de proteínas e resposta a estímulos. Para os genes *down*-regulados (Figura B do Apêndice) destacam-se: homeostase (homeostase, ativação, sinalização e agregação plaquetária) e organização da matriz extracelular.

3.3 Genes diferencialmente expressos nos três subtipos de UCEC

Dentre os genes exclusivos da interseção em UCEC, foram selecionados os cinco genes mais *up*-regulados e os dois genes mais *down*-regulados em ordem de *Fold Change*, respectivamente (Quadro 1). O *Fold Change* é uma medida gerada pelo próprio UALCAN que define quantas vezes o gene é mais ou menos expresso em relação ao normal. Esses genes foram selecionados para as análises posteriores.

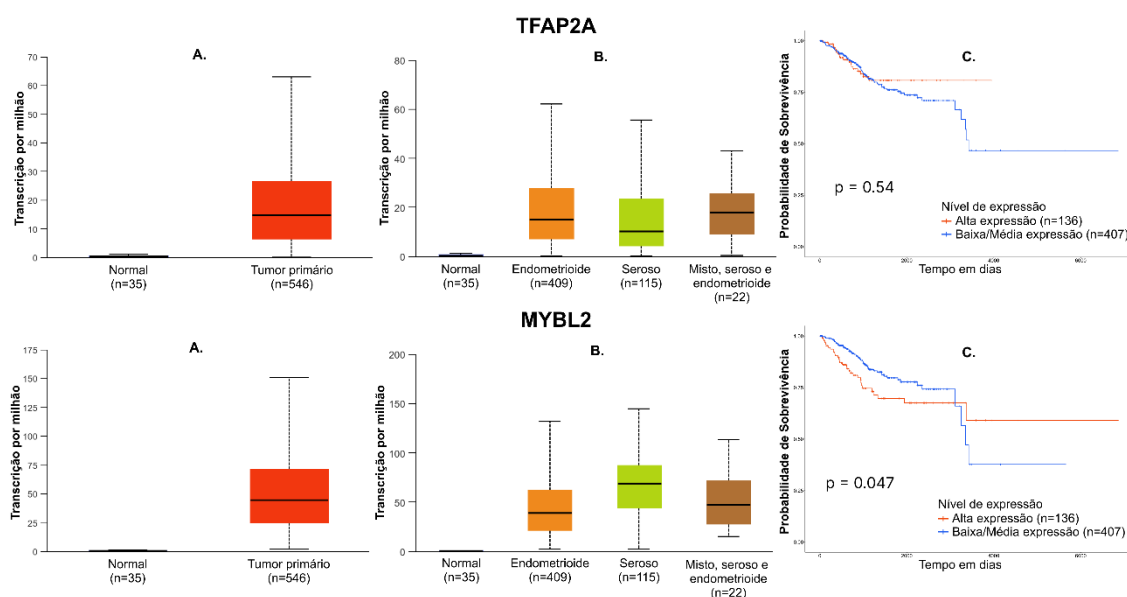
Quadro 1: Descrição baseada no NCBI, 2024 (Centro Nacional de Informação Biotecnológica) dos cinco principais genes mais *up*-regulados e dos dois principais genes mais *down*-regulados da interseção de UCEC, listados em ordem de *Fold Change* predefinida pela plataforma UALCAN.

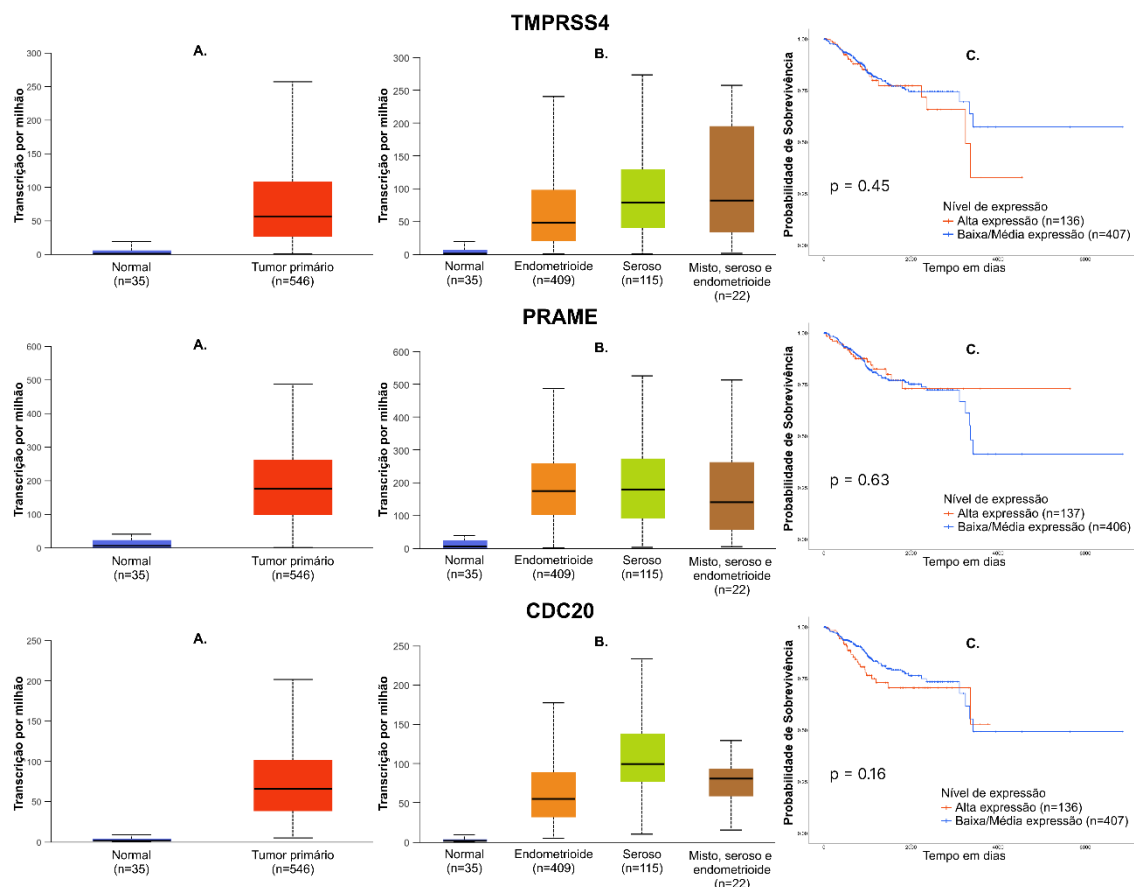
Descrição dos genes <i>up</i> -regulados	
Gene	Descrição
TFAP2A	A proteína codificada por este gene fator de transcrição AP-2 alfa é um fator de transcrição que ativa a transcrição de alguns genes enquanto inibe a transcrição de outros.
MYBL2	A proteína codificada por este gene proto-oncogene MYB como 2 é uma proteína nuclear envolvida na progressão do ciclo celular. É fosforilada pela ciclina A/quinase 2 dependente de ciclina durante a fase S do ciclo celular e possui atividades ativadoras e repressoras.
TMPRSS4	Este gene codifica uma proteína (protease transmembrana serina 4) pertencente à família das serinas proteases, que desempenha papéis essenciais em diversos processos biológicos. O mau funcionamento dessas proteases frequentemente resulta em doenças e distúrbios humanos. Este gene foi identificado como sendo superexpresso no carcinoma pancreático. A proteína codificada é ancorada na membrana por uma sequência N-terminal e possui uma região extracelular glicosilada que contém o domínio da serina protease.

PRAME	O regulador transcricional do receptor nuclear PRAME não é expresso em tecidos normais, exceto testículos. A proteína codificada atua como um repressor do receptor do ácido retinóico e provavelmente confere uma vantagem de crescimento às células cancerígenas por meio dessa função.
CDC20	O ciclo de divisão celular 20 é uma proteína reguladora que interage no ciclo celular. É necessária no movimento nuclear antes da anáfase e separação dos cromossomos.
Descrição dos genes <i>down</i>-regulados	
Gene	Descrição
DPT	A dermatopontina é uma proteína da matriz extracelular com possíveis funções nas interações célula-matriz e na montagem da matriz.
OGN	A osteoglicina induz a formação óssea ectópica em conjunto com o fator de crescimento transformador beta e pode regular a diferenciação dos osteoblastos.

Destaca-se na figura 4, a expressão dos cinco genes mais *up*-regulados TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 nos três subtipos de UCEC e a relação deles com o gráfico de sobrevivência de Kaplan-Meier. Dessa forma, todos os genes apresentaram-se superexpressos no tumor primário em relação ao tecido normal. Em relação aos subtipos, os genes PRAME, CDC20 e MYBL2 apresentaram mais transcritos por milhão no subtipo seroso, nessa ordem, enquanto TFAP2A apresentou maior transcrição por milhão no subtipo endometrióide, e TMPRSS4, nos três subtipos. TFAP2A, MYBL2, PRAME e CDC20 demonstraram melhor sobrevida em pacientes com alta expressão, enquanto TMPRSS4 evidenciou pior sobrevida nessa mesma condição.

Figura 4: Expressão dos genes selecionados *up*-regulados TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20, e gráfico de sobrevivência no UCEC.

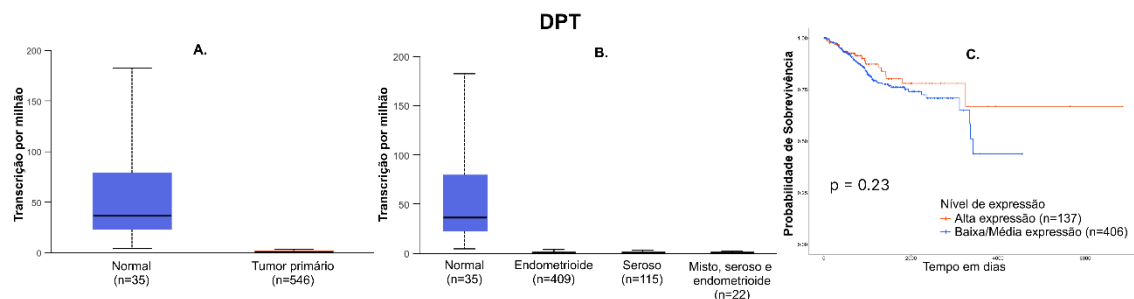


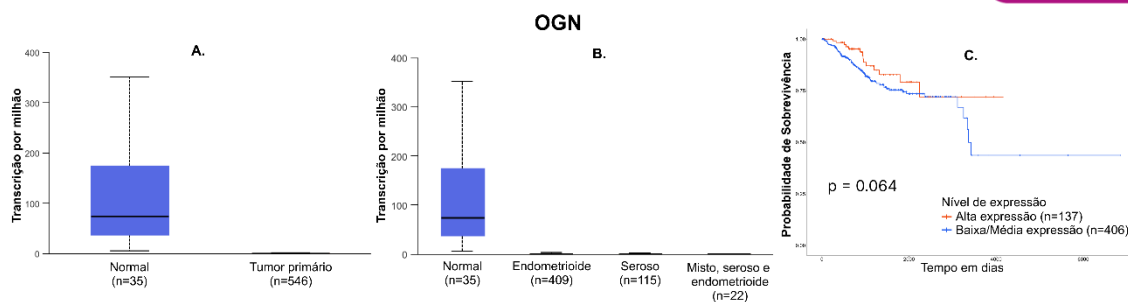


Legenda: Análise de gráficos *boxplot* gerados por meio da plataforma UALCAN, na qual foram encontrados os mesmos resultados para cada gene nos três subtipos de UCEC, e de gráficos de Kaplan-Meier. Em A, expressão dos genes *up*-regulados TFAP2A, MYBL2, TMRSS4, PRAME e CDC20 em tumor primário e tecido normal. Em B, comparação entre os tipos histológicos endometrióide, seroso e misto, e em C, gráfico de sobrevivência.

Destaca-se na figura 5, a expressão dos dois genes mais *down*-regulados DPT e OGN nos três subtipos de UCEC e a relação deles com o gráfico de sobrevivência de Kaplan-Meier. Dessa forma, todos os genes apresentaram-se pouco expressos no tumor primário em relação ao tecido normal, em todos os subtipos de UCEC, além de ambos terem demonstrado pior sobrevida em pacientes com baixa expressão.

Figura 5: Expressão dos genes selecionados *down*-regulados DPT e OGN, e gráfico de sobrevivência no UCEC.





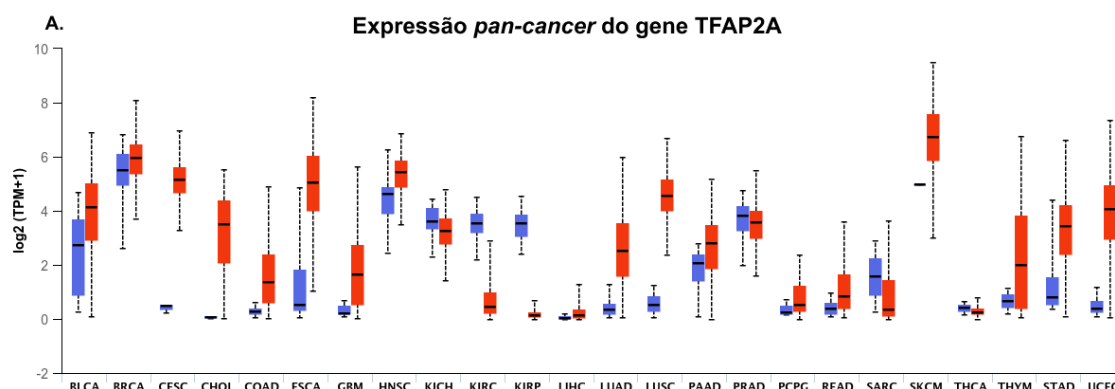
Legenda: Análise de gráficos *boxplot* gerados por meio da plataforma UALCAN, na qual foram encontrados os mesmos resultados para cada gene nos três subtipos de UCEC, e de gráficos de Kaplan-Meier. Em A, expressão dos genes *down-regulados* DPT e OGN em tumor primário e tecido normal. Em B, comparação entre os tipos histológicos endometrióide, seroso e misto, e em C, gráfico de sobrevivência.

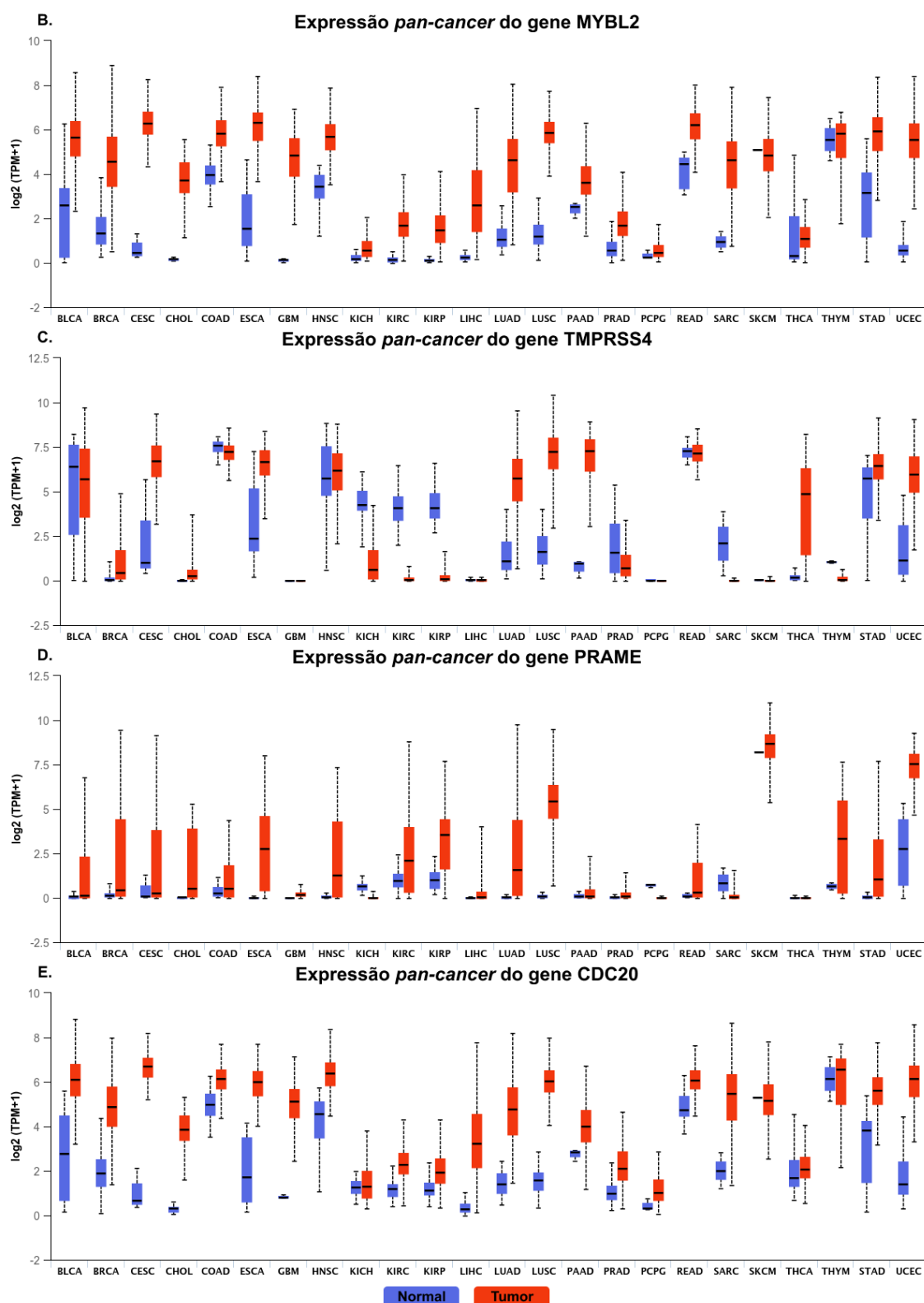
3.4 Análise *pan-cancer*

Foi realizada uma análise dos cinco genes mais *up-regulados* (Figura 6) e dos dois genes mais *down-regulados* (Figura 7) em diferentes tipos de cânceres (*pan-cancer*), estabelecendo correlações com o tecido normal e tumoral.

Apesar de o gene TFAP2A (Figura 6A) ter sido pouco expresso em alguns cânceres, na maioria deles foi superexpresso. Na expressão do gene MYBL2 (Figura 6B), somente o carcinoma de tireoide (THCA) apresentou-se menos expresso no tecido tumoral em comparação com o normal. Contudo, o gene TMPRSS4 (Figura 6C) destacou-se expressivamente em tecidos normais de alguns cânceres. O gene PRAME (Figura 6D) regulou-se superexpresso na maioria dos cânceres, principalmente em melanoma cutâneo e em UCEC, enquanto o gene CDC20 (Figura 6E) apresentou-se superexpresso em todos os cânceres. Portanto, a expressão de cada gene foi diferente em cada tipo de câncer.

Figura 6: Expressão dos genes TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 em diagrama de caixa (*boxplot*) em diferentes tipos de tumor (*pan-cancer*) comparados com tecidos normais correspondentes.



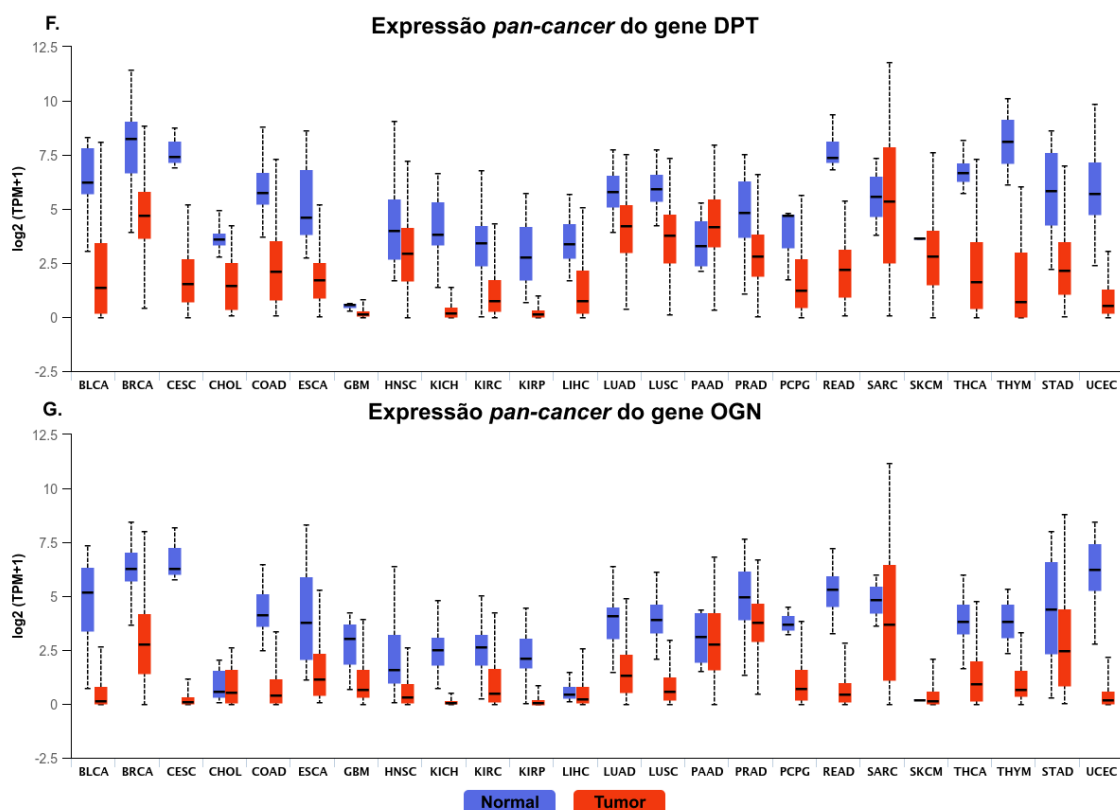


Legenda: Análise de expressão *pan-cancer* gerada por meio da plataforma UALCAN. UCEC leva em consideração dados de câncer endometriode, seroso e misto, podendo não representar apenas um subtipo conforme descrito em análise de amostras isoladas por subgrupos (carcinoma urotelial de bexiga (BLCA), carcinoma invasivo de mama (BRCA), carcinoma de células escamosas cervicais e adenocarcinoma endocervical (CESC), colangiocarcinoma (CHOL), adenocarcinoma de cólon (COAD), carcinoma de esôfago (ESCA), glioblastoma multiforme (GBM), carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSC), carcinoma cromóforo renal (KICH), carcinoma de células claras do rim (KIRC), carcinoma de células papilares renais (KIRP), carcinoma hepatocelular do fígado (LIHC), adenocarcinoma de pulmão (LUAD),

carcinoma de células escamosas de pulmão (LUSC), adenocarcinoma pancreático (PAAD), adenocarcinoma de próstata (PRAD), feocromocitoma e paraganglioma (PCPG), adenocarcinoma retal (READ), sarcoma (SARC), melanoma cutâneo (SKCM), carcinoma de tireoide (THCA), timoma (THYM), adenocarcinoma gástrico (STAD), carcinoma endometrial do corpo uterino (UCEC)).

Após análise da expressão *pan-cancer* dos genes DPT (Figura 7F) e OGN (Figura 7G), observou-se que ambos se apresentaram *down*-regulados na maioria dos cânceres e foram diferencialmente expressos em cada câncer.

Figura 7: Expressão dos genes DPT e OGN em diagrama de caixa (*boxplot*) em diferentes tipos de tumor (*pan-cancer*) comparados com tecidos normais correspondentes.



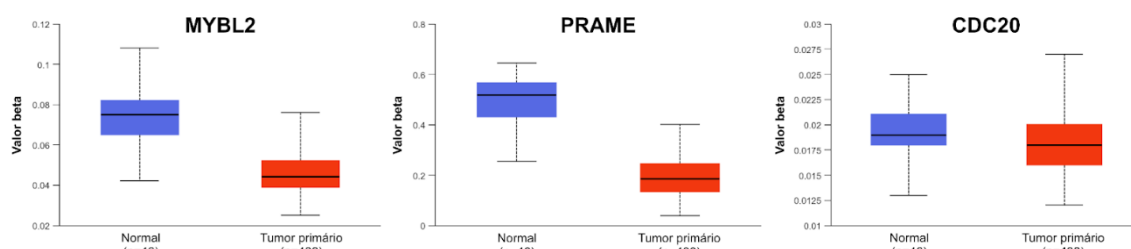
Legenda: Análise de expressão *pan-cancer* gerada por meio da plataforma UALCAN. UCEC leva em consideração dados de câncer endometriode, seroso e misto, podendo não representar apenas um subtipo conforme descrito em análise de amostras isoladas por subgrupos (carcinoma urotelial de bexiga (BLCA), carcinoma invasivo de mama (BRCA), carcinoma de células escamosas cervicais e adenocarcinoma endocervical (CESC), colangiocarcinoma (CHOL), adenocarcinoma de cólon (COAD), carcinoma de esôfago (ESCA), glioblastoma multiforme (GBM), carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSC), carcinoma cromóforo renal (KICH), carcinoma de células claras do rim (KIRC), carcinoma de células papilares renais (KIRP), carcinoma hepatocelular do fígado (LIHC), adenocarcinoma de pulmão (LUAD), carcinoma de células escamosas de pulmão (LUSC), adenocarcinoma pancreático (PAAD), adenocarcinoma de próstata (PRAD), feocromocitoma e paraganglioma (PCPG), adenocarcinoma retal (READ), sarcoma (SARC), melanoma cutâneo (SKCM), carcinoma de tireoide (THCA), timoma (THYM), adenocarcinoma gástrico (STAD), carcinoma endometrial do corpo uterino (UCEC)).

3.5 Perfil de metilação de promotores

Dentre os cinco principais genes mais *up*-regulados obtidos da interseção de UCEC gerados pelo UALCAN, os genes MYBL2, PRAME e CDC20 foram selecionados para avaliação do nível de metilação da região promotora (Figura 8). Logo, observou-se que

CDC20, MYBL2 e PRAME apresentaram-se mais hipometilados, nessa ordem, em UCEC quando comparados ao tecido normal.

Figura 8: Nível de metilação de promotores dos genes *up*-regulados MYBL2, PRAME e CDC20.



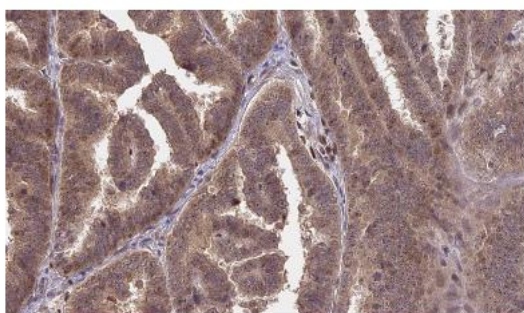
Legenda: Análise do nível de metilação de promotores gerada por meio da plataforma UALCAN. O valor beta indica o nível de metilação do DNA variando de 0 (não metilado) a 1 (totalmente metilado) comparando o normal, em azul, e o tumor primário, em vermelho.

3.6 Detecção dos produtos gênicos por imunohistoquímica

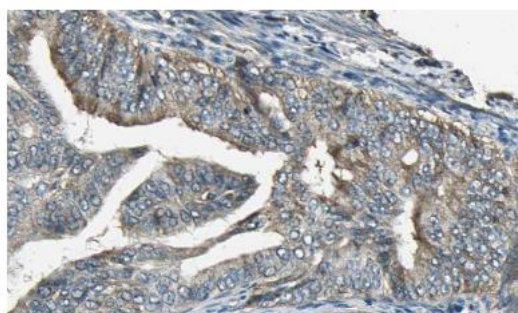
O banco de dados de THPA foi utilizado para investigar os padrões de expressão dos cinco genes *up*-regulados em amostras de pacientes com UCEC. O objetivo foi verificar se os produtos gênicos são detectáveis pelo método de imunohistoquímica, o que agrega mais valor diagnóstico e prognóstico. Foram analisados os níveis de expressão (evidenciado em marrom) de MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 (Figura 9). A análise das imagens de imunohistoquímica revelou que as proteínas codificadas por MYBL2, TMPRSS4 e CDC20 estavam localizadas no citoplasma e membrana nuclear, enquanto para o gene PRAME, estava localizada no núcleo. Não foi detectada expressão quando analisado o gene TFAP2A.

Figura 9: Imunohistoquímica dos genes *up*-regulados MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20.

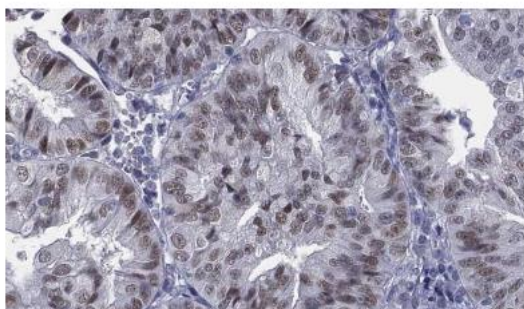
A.



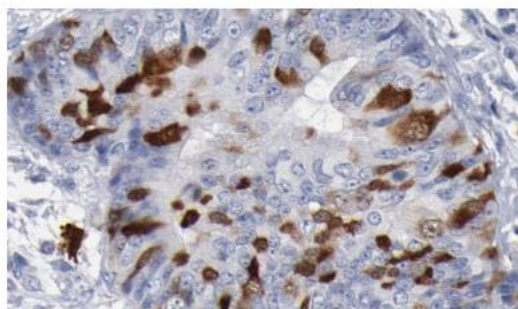
B.



C.



D.



Legenda: Análise de marcação dos genes em UCEC por imunohistoquímica obtida pela plataforma “O Atlas de Proteína Humana” (THPA), em que regiões com coloração marrom indicam a detecção da expressão gênica. Em A, MYBL2 (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000101057-MYBL2/pathology/endometrial+cancer#img>); em B, TMPRSS4 (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000137648-TMPRSS4/pathology/endometrial+cancer#img>); em C, PRAME (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000185686-PRAME/pathology/endometrial+cancer#img>) e em D, CDC20 (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000117399-CDC20/pathology/endometrial+cancer#img>).

4 DISCUSSÃO

Este estudo analisou genes diferencialmente expressos encontrados em comum com os três subtipos de UCEC: endometriode, seroso e misto. Segundo Yang et al. (2014), entre os fatores prognósticos mais importantes no diagnóstico de UCEC está o subtipo histológico. Os subtipos são classificados em dois principais grupos: tipo I, que inclui adenocarcinomas endometrioides caracterizados por um grau histológico baixo e menor potencial metastático; e tipo II, que abrange carcinomas de morfologia serosa ou de células mistas, apresentando um grau histológico elevado e maior agressividade metastática. De acordo com Morice et al. (2016), embora o câncer endometrial do tipo endometriode seja o subtipo mais frequentemente diagnosticado, o carcinoma seroso é mais raro e agressivo, além de ser associado a um pior prognóstico, e o subtipo misto combina características entre esses tipos.

Foram selecionados para este estudo uma lista de 250 genes mais *up*- e *down*-regulados no UCEC e foi investigado em quais processos celulares eles estavam envolvidos (Figuras A e B do Apêndice). Segundo Kabir et al. (2018), as vias de sinalização são os principais mecanismos biológicos que transmitem sinais extracelulares para o interior das células, modulando a regulação gênica por meio de fatores de transcrição. Sendo assim, a ativação das vias pode responder a diferentes estímulos fisiológicos, que transduz os sinais extracelulares por meio das interações ligante-receptor na superfície celular para regular a expressão gênica intracelular, resultando em respostas celulares como proliferação, diferenciação, ativação do metabolismo e morte. Portanto, ao compreender as vias críticas relacionadas aos genes ativados ou inibidos no câncer endometrial, é possível mapear estratégias terapêuticas mais eficazes do tecido afetado.

As vias associadas com os genes *up*-regulados (Figura A do Apêndice) neste estudo foram replicação de DNA, transcrição, ciclo celular, expressão de genes dependente de estrógeno, metabolismo de proteínas e resposta a estímulos. É importante ressaltar que diversos estudos têm demonstrado que a secreção excessiva de estrogênio é um fator de risco para desenvolvimento de UCEC, embora mais estudos sejam necessários para determinar os genes alvos de regulação desse hormônio (CARLSON; THIEL; LESLIE, 2014; RODRIGUEZ et al., 2019).

As vias associadas com os genes *down*-regulados (Figura B do Apêndice) foram homeostase (homeostase, ativação, sinalização e agregação plaquetária) e organização da matriz extracelular. Segundo Padežnik et al. (2023), a matriz extracelular (MEC) é um componente importante do microambiente celular e desempenha funções essenciais no desenvolvimento e regulação dos tecidos normais e na homeostase, desta forma, a alteração da MEC contribui para processos patológicos, tais como endometriose, infertilidade, câncer e metástase.

Nas análises mais específicas, os genes TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 apresentaram expressão elevada nos três subtipos de UCEC (Figura 4B), indicando associação com a agressividade e progressão tumoral. Esses mesmos genes foram também observados em alta expressão em diversos outros tipos de câncer na análise *pan-cancer* (Figura 6). Em contraste, os genes DPT e OGN apresentaram expressão reduzida nestes tumores (Figuras 5B e 7), sugerindo funções supressoras de tumor que podem ser inibidas durante a carcinogênese, necessitando de mais estudos.

O gene TFAP2A codifica o fator de transcrição AP-2 alfa (AP-2 α) que regula o crescimento celular e segundo o estudo de Zhang et al. (2019), esse fator pode promover a superexpressão de RNAs não codificantes longos (lncRNAs), um tipo de transcrito não codificador de proteínas com mais de 200 nucleotídeos. Eles demonstraram que o AP-2 α no UCEC liga-se à região promotora de lncRNA SNHG16 e ativa sua transcrição, que logo induz sua superexpressão e consequentemente a glicólise e a proliferação no carcinoma endometrial. Assim, foi apontado que o silenciamento do SNHG16 reprimiu a proliferação e a glicólise das células do carcinoma endometrial. Contudo, quando avaliado o efeito do nível de expressão gênica na sobrevivência (Figura 4C), percebeu-se que pacientes com menor expressão apresentaram pior sobrevida. Entretanto, caso seja observada uma diminuição na superexpressão após um determinado período, isso pode indicar um pior prognóstico para o paciente (WU; ZHANG, 2018).

Quanto ao gene MYBL2, sua expressão em tecidos normais e tumorais apresentou uma diferença significativa, como é possível observar na Figura 4. Controversamente, a sobrevida de pacientes com alta expressão deste gene apresentou-se melhor quando comparada aos com baixa expressão (Figura 4C). Esse gene codifica um fator de transcrição que é *up*-regulado em diversos tipos de cânceres e está associado a progressão do ciclo, sobrevivência e diferenciação celular tendo impacto na progressão do câncer (MUSA et al., 2017). No trabalho de Le et al. (2021), o silenciamento de MYBL2 inibiu a proliferação e induziu apoptose e parada do ciclo celular na fase G1 nas células de UCEC. Dessa forma, pode ser um possível candidato a marcador prognóstico. Além disso, a proteína codificada por esse gene pode ser detectada por testes de imunohistoquímica, como demonstrado nas análises dentro da plataforma THPA (Figura 9).

Em relação ao gene TMPRSS4, sua alta expressão em UCEC correlacionou-se com menor sobrevida (Figura 4C) e tem expressão detectada por imunohistoquímica (Figura 9). Diversos estudos demonstraram que esse gene pode ser um potencial alvo terapêutico no câncer. Esses mesmos estudos demonstraram que esse gene está relacionado à invasão, metástase do tumor e ao mau prognóstico (DE ABERASTURI e CALVO, 2015; KIM, 2023). Xiao et al. (2021) realizaram *knockdown* desse gene em linhagens celulares de câncer endometrial humano e observaram a inibição da proliferação dessas células. Além disso, eles verificaram que a capacidade invasiva dessas células diminuiu significativamente pela regulação da transição epitelial-mesenquimal, por meio das vias de sinalização MAPK (proteínas quinases ativadas por mitógeno) e PKB (proteína quinase B), as quais são ativadas de forma incontrolável, levando à proliferação celular, migração e invasão em células tumorais.

O gene CDC20 apresentou-se superexpresso em UCEC (Figura 4A), embora ainda seja pouco explorado neste tipo de câncer. A expressão aumentada de CDC20 é mais frequentemente explorada em adenocarcinoma de pulmão, câncer de mama, câncer de

bexiga e câncer de próstata e pode servir como um novo biomarcador para prognósticos. Esse gene codifica uma proteína reguladora do ciclo celular e tem sido implicada na regulação de diversos outros processos celulares, tais como a apoptose (WANG et al., 2015). Assim, de acordo com o THPA, a proteína codificada por esse gene pode ser um importante alvo para análise de prognóstico por meio de técnicas de imunohistoquímica (Figura 9), uma vez que sua ausência na detecção em pacientes com UCEC pode indicar bom prognóstico. Esses achados estão de acordo com o trabalho de Zhang et al. (2022) que demonstraram que esse gene pode servir como um biomarcador diagnóstico e prognóstico no carcinoma endometrial.

Dentre os genes *down*-regulados explorados neste trabalho, destacam-se os genes OGN e DTP (Figura 5). O estudo de Lin et al. (2023) sugere que a osteoglicina (OGN) pode participar da regulação da imunidade tumoral e inibir o progresso do câncer, afetando assim o prognóstico dos pacientes. E como demonstrado no presente estudo, sua expressão apresentou-se diminuída no UCEC (Figura 5A) podendo ter implicações na progressão maligna, além de apresentar pior sobrevida quando esse gene se encontra em baixa expressão (Figura 5C).

Por fim, notou-se que o gene DPT estava pouco expresso no UCEC (Figura 5A). Segundo Huang et al. (2021), esse gene sintetiza uma proteína que está envolvida na organização da matriz extracelular e no controle da adesão celular, a qual possui importância na remodelação da arquitetura tecidual, além de regular o microambiente tumoral, aumentando a atividade biológica de TGF- β e promovendo formação de novos vasos sanguíneos interagindo com o receptor de integrina $\alpha 3 \beta 1$ de matriz extracelular. Também apresentou baixa expressão em carcinomas hepatocelular e de próstata, nos quais evidenciou que sua expressão medeia a adesão celular ligando-se à integrina $\alpha 3 \beta 1$, inibindo assim a proliferação e migração de células tumorais. Portanto, a inibição deste gene poderia estar relacionada ao grau de malignidade e poderia ser utilizado com marcador prognóstico, já que sua baixa expressão apresentou menor sobrevida dos pacientes (Figura 5C).

Em relação aos dados de metilação dos promotores, os genes CDC20, MYBL2 e PRAME apresentaram-se mais hipometilados, nessa ordem, quando superexpressos em UCEC (Figura 8). A hipermetilação e a subsequente inativação de genes envolvidos na reparação do DNA podem servir como indicadores do desenvolvimento de câncer, conferindo uma maior suscetibilidade à carcinogênese. Essa predisposição aumenta o risco de outras mutações e danos ao DNA. A metilação na região promotora, uma das formas mais comuns de inativação epigenética da expressão gênica, pode suprimir a função desses genes e, como consequência, ocorrer um aumento na invasividade tumoral e promover o processo metastático. Entretanto, diferentemente da hipermetilação que provoca o silenciamento gênico, a hipometilação ativa a expressão gênica, embora ambas estejam relacionadas à carcinogênese (DAI et al., 2022).

Conforme descrito por Liu et al. (2020), a presença de metilação no DNA da região promotora de um gene geralmente resulta na inibição da expressão gênica, o que faz correlação direta entre a metilação do DNA e a progressão tumoral, destacando a ligação desse processo com o desenvolvimento do UCEC. Esta associação é atribuída ao potencial dos DEGs metilados e das vias desreguladas em UCEC, o que pode ser visto ao analisar o gene PRAME (Figura 8). Nesse gene, observou-se que os níveis de expressão eram mais elevados nos tecidos tumorais em comparação com os tecidos normais (Figura 4A). No entanto, quando a metilação deste gene foi descrita, foi constatado que

ele estava hipometilado no UCEC em comparação com os tecidos normais (Figura 8). Esse mecanismo pode ser explicado pelo fato de que os genes hipometilados tendem a ser regulados positivamente, o que explica sua expressão e ativação, enquanto os genes hipermetilados são regulados negativamente, o que explica sua inibição e inativação.

Embora o gene CDC20 esteja superexpresso em UCEC, seu perfil de metilação de promotores não se mostrou tão diferente de tecidos normais (Figura 8). Esse resultado é condizente com o estudo de Huo et al. (2019), que descreve a metilação deste gene por estar associada às vias centrais de sinalização do câncer, como o ciclo celular, por exemplo, o que contribui para a carcinogênese e a progressão do UCEC.

5 CONCLUSÃO

Nos últimos anos, a pesquisa sobre o microambiente tumoral do carcinoma endometrial, especialmente dos subtipos endometriode e seroso, tem avançado significativamente. Esse progresso é impulsionado pelo aumento dos casos diagnosticados e dos meios convencionais ainda utilizados, pela taxa de sobrevivência global e pelo desenvolvimento da bioinformática, a qual tem contribuído para novas descobertas como análise de sequenciamentos em banco de dados e assinaturas gênicas. Além disso, fatores genéticos, estilo de vida, fatores ambientais e modificações epigenéticas também desempenham significativo desenvolvimento de UCEC, embora esse último ponto tenha sido pouco descrito e analisado em artigos, sendo que corrobora diretamente para a progressão desse câncer.

Por meio de métodos de comparação, correlação e interseção de dados, bem como análises de expressão gênica e revisões bibliográficas, identificou-se genes que são promissores como potenciais alvos terapêuticos, marcadores diagnósticos e prognósticos no carcinoma endometrial. Entre eles, os genes TFAP2A, MYBL2, TMPRSS4, PRAME e CDC20 destacaram-se por serem superexpressos nos três subtipos de UCEC: endometriode, seroso e misto, correlacionando-os com perfis de agressividade e invasão tumoral. Esses genes podem ser detectados por meio de técnicas de imunohistoquímica. Por outro lado, genes como DPT e OGN apresentaram expressão reduzida em tumores, indicando possíveis funções que são suprimidas durante a carcinogênese.

Apesar dessas descobertas, novos ensaios clínicos e estudos são essenciais para confirmar o padrão de expressão desses genes e resolver as inconsistências encontradas na literatura. É fundamental compreender melhor as vias de sinalização e perfis de metilação de promotores em que esses genes estão envolvidos no microambiente do carcinoma endometrial para avaliar seus benefícios clínicos potenciais. Além disso, é importante investigar como os tumores realizam a reprogramação metabólica e o escape imunológico através de mecanismos ainda não completamente compreendidos.

REFERÊNCIAS

ANJUM, A. et al. Identification of Differentially Expressed Genes in RNA-seq Data of *Arabidopsis thaliana*: A Compound Distribution Approach. **Journal of Computational Biology**, v. 23, n. 4, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4827276/>. Acesso em: mar. 2024.

BARON, J. A. et al. Cigarette Smoking and Estrogen-Related Cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 30, n. 8, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8338753/>. Acesso em: mar. 2024.

BORON, D. et al. Recent Multiomics Approaches in Endometrial Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8836055/>. Acesso em: mar. 2024.

BRUNO, V. et al. Endometrial Cancer Immune Escape Mechanisms: Let Us Learn From the Fetal–Maternal Interface. **Frontiers in Oncology**, v. 10, n. 156, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7080858/>. Acesso em: mar. 2024.

CARLSON, J. M.; THIEL, K. W.; LESLIE, K. K. Past, present, and future of hormonal therapy in recurrent endometrial cancer. **International Journal of Women's Health**, v. 6, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/IJWH.S40942>. Acesso em: jun. 2024.

CASERTA, D. et al. Endocrine Disruptors and Endometrial Cancer: Molecular Mechanisms of Action and Clinical Implications, a Systematic Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 6, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35328379/>. Acesso em: mar. 2024.

CHANDRASHEKAR, D. S. et al. UALCAN: A Portal for Facilitating Tumor Subgroup Gene Expression and Survival Analyses. **Neoplasia**, v. 19, n. 8, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28732212/>. Acesso em: mar. 2024.

CHEN, P. et al. Identification of prognostic immune-related genes in the tumor microenvironment of endometrial cancer. **Aging**, v. 12, n. 4, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7066904/>. Acesso em: mar. 2024.

DAI, F. et al. Integrated Bioinformatic Analysis of DNA Methylation and Immune Infiltration in Endometrial Cancer. **BioMed Research International**, v. 2022, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9237709/>. Acesso em: mai. 2024.

DE ABERASTURI, A. L.; CALVO, A. TMPRSS4: an emerging potential therapeutic target in cancer. **British Journal of Cancer**, v. 112, n. 1, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4453593/>. Acesso em: jun. 2024.

EDUARDO, F. M. C.; MEZZOMO, T. R. **Anatomofisiologia do corpo humano**. Intersaberes, 2022. Disponível em: <https://plataforma.bvirtual.com.br/Acervo/Publicacao/209621>. Acesso em: abr. 2024.

HEBERLE, H. et al. InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. **BMC Bioinformatics**, v. 16, n. 169, 2015. Disponível em: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12859-015-0611-3>. Acesso em: mar. 2024.

- HUANG, H. et al. Dermatopontin as a potential pathogenic factor in endometrial cancer. **Oncology Letters**, v. 21, n. 5, 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8020378/>. Acesso em: mai. 2024.
- HUO, X. et al. Identification of prognosis markers for endometrial cancer by integrated analysis of DNA methylation and RNA-Seq data. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31289358/>. Acesso em: mai. 2024.
- JASSAL, B. et al. The reactome pathway knowledgebase. **Nucleic Acids Research**, v. 48, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31691815/>. Acesso em: mai. 2024.
- KABIR, M. H. et al. Identification of active signaling pathways by integrating gene expression and protein interaction data. **BMC Systems Biology**, v. 12, n. 9, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6311899/>. Acesso em: mai. 2024.
- KIM, S. TMPRSS4, a type II transmembrane serine protease, as a potential therapeutic target in cancer. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 55, 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s12276-023-00975-5>. Acesso em: jun. 2024.
- LE, L. et al. Overexpression of MYBL2 predicts poor prognosis and promotes oncogenesis in endometrial carcinoma. **European Journal of Histochemistry**, v. 65, n. 2, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33782625/>. Acesso em: mai. 2024.
- LIN, Y. et al. Analysis of the characteristics of immune infiltration in endometrial carcinoma and its relationship with prognosis based on bioinformatics. **Medicine**, v. 102, n. 25, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37352032/>. Acesso em: mai. 2024.
- LIU, J. et al. Development and Clinical Validation of Novel 8-Gene Prognostic Signature Associated With the Proportion of Regulatory T Cells by Weighted Gene Co-Expression Network Analysis in Uterine Corpus Endometrial Carcinoma. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34970268/>. Acesso em mar. 2024.
- LIU, J. et al. Identification of aberrantly methylated differentially expressed genes and associated pathways in endometrial cancer using integrated bioinformatic analysis. **Cancer Medicine**, v. 9, n.10, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7221444/>. Acesso em mai. 2024.
- MORICE, P. et al. Endometrial cancer. **Lancet**, v. 387, n.10023, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26354523/>. Acesso em: mai. 2024.
- MUSA, J. et al. MYBL2 (B-Myb): a central regulator of cell proliferation, cell survival and differentiation involved in tumorigenesis. **Cell Death & Disease**, v. 8, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/cddis2017244>. Acesso em: jun. 2024.

NCBI - National Center for Biotechnology Information, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: jun. 2024.

PADEŽNIK, T. et al. Changes in the Extracellular Matrix in Endometrial and Cervical Cancer: A Systematic Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10052846/>. Acesso em: jun. 2024.

PELAEZ, M. C.; COSTA, A. B.; ESTELLER, M. Single cell cancer epigenetics. **Trends in Cancer**, v. 8, n.10, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35821003/>. Acesso em: mar. 2024.

PORIETIS, R. L. K. et al. Prospective Cohort of Pre- and Post-diagnosis Diet with Survival Outcomes: an Alberta Endometrial Cancer Cohort Study. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 32, n. 2, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9905303/>. Acesso em: mar. 2024.

PRADO, B. B. S. Influência dos hábitos de vida no desenvolvimento do câncer. **Ciência e cultura**, v. 66, n. 1, 2014. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000100011. Acesso em: mar. 2024.

REACTOME, 2024. Disponível em: <https://reactome.org/>. Acesso em: mai. 2024.

RODRIGUEZ, A. C. et al. Estrogen Signaling in Endometrial Cancer: a Key Oncogenic Pathway with Several Open Questions. **Hormones and Cancer**, v. 10, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6542701/>. Acesso em: jun. 2024.

ROSATI, D. et al. Differential gene expression analysis pipelines and bioinformatic tools for the identification of specific biomarkers: A review. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 23, 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10951429/>. Acesso em: mai. 2024.

ROY, P. S.; SAIKIA, B. J. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian Journal of cancer**, v. 53, n. 3, 2016. Disponível em: https://journals.lww.com/indianjcancer/fulltext/2016/53030/cancer_and_cure__a_critical_analysis.27.aspx. Acesso em: mar. 2024.

THPA - The Human Protein Atlas, 2024. Disponível em: <https://www.proteinatlas.org/about>. Acesso em: jun. 2024.

UALCAN - The University of Alabama at Birmingham CANcer data analysis portal, 2024. Disponível em: <https://ualcan.path.uab.edu/>. Acesso em: mar. 2024.

WANG, L. et al. Targeting Cdc20 as a novel cancer therapeutic strategy. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 151, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725815000777>. Acesso em: mai. 2024.

WU, H.; ZHANG, J. Decreased expression of TFAP2B in endometrial cancer predicts poor prognosis: A study based on TCGA data. **Gynecologic Oncology**, v. 149, n. 3, 2018. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0090825818302373>. Acesso em: jun. 2024.

XIAO, H. et al. Type II transmembrane serine proteases 4 (TMPRSS4) promotes proliferation, invasion and epithelial–mesenchymal transition in endometrial carcinoma cells (HEC1A and Ishikawa) via activation of MAPK and AKT. **Animals Cells and Systems**, v. 25, n. 4, 2021. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8366621/>. Acesso em: mai. 2024.

YANG, G. D. et al. SERPINA3 promotes endometrial cancer cells growth by regulating G2/M cell cycle checkpoint and apoptosis. **International Journal of Clinical & Experimental Pathology**, v. 7, n. 4, 2014. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014215/>. Acesso em: mai. 2024.

YANG, Q.; YU, B.; SUN, J. TTK, CDC25A, and ESPL1 as Prognostic Biomarkers for Endometrial Cancer. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7685798/>. Acesso em: mar. 2024.

ZHANG, G. et al. LncRNA SNHG16 induced by TFAP2A modulates glycolysis and proliferation of endometrial carcinoma through miR-490-3p/HK2 axis. **American Journal of Translation Research**, v. 11, n. 11, 2019. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6895515/>. Acesso em: mai. 2024.

ZHANG, Q.; WANG, Y.; XUE, F. ASPM, CDC20, DLGAP5, BUB1B, CDCA8, and NCAPG May Serve as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Endometrial Carcinoma. **Genetics Research**, v. 2022, 2022. Disponível em:

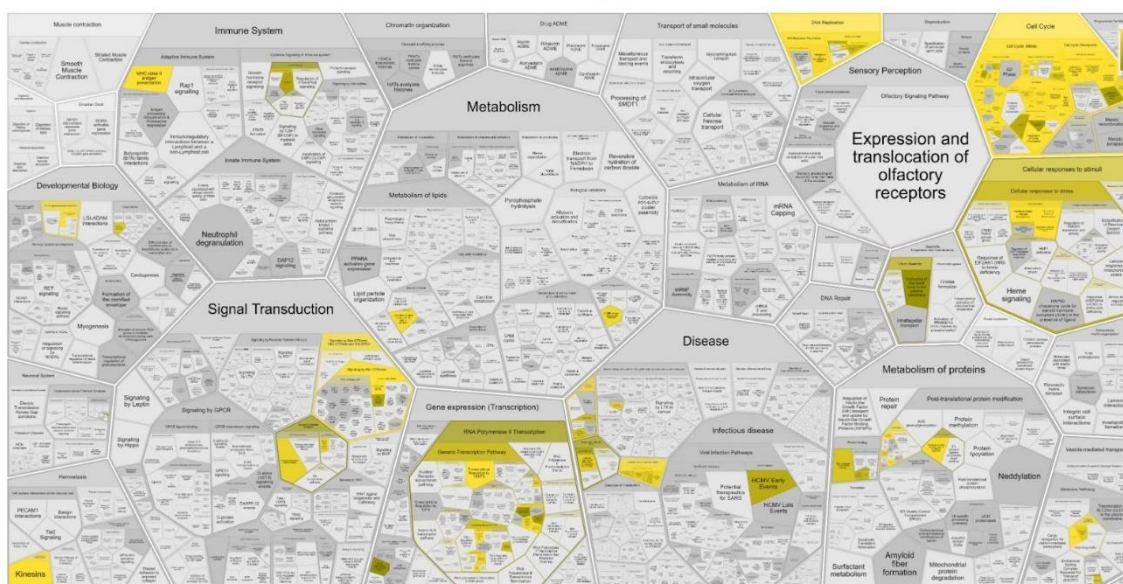
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9509287/>. Acesso em: mai. 2024.

APÊNDICE

Figura: *Reactome* dos 250 genes *up*- e *down*-regulados no UCEC.

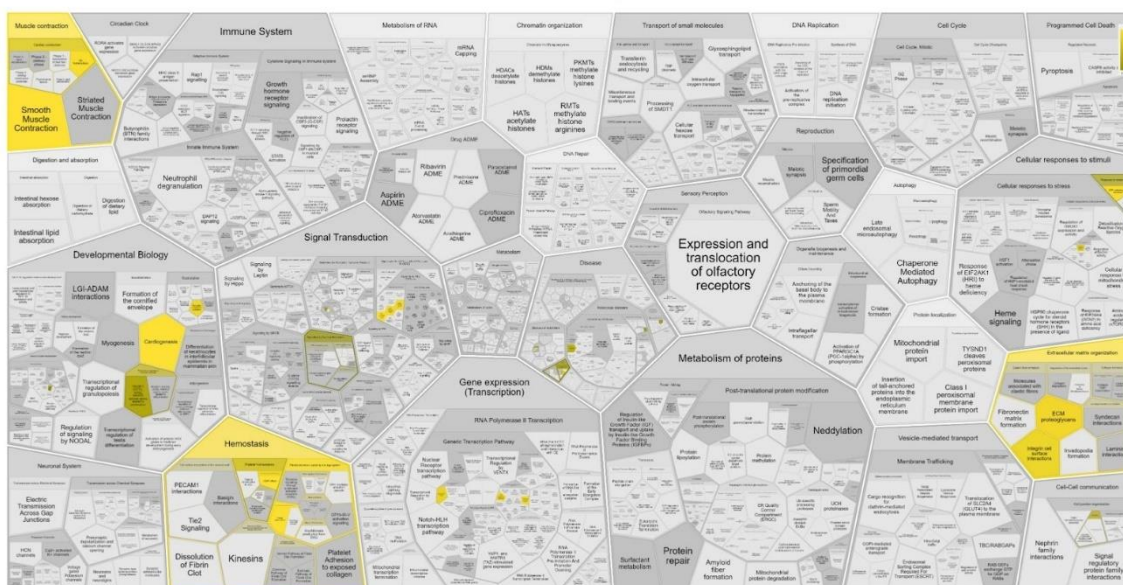
A

Genes *up*-regulados



B

Genes *down*-regulados



Legenda: Análise das vias enriquecidas relacionadas aos genes *up*- e *down*-regulados em UCEC utilizando a plataforma *Reactome*. As áreas destacadas em amarelo representam as vias de maior relevância e interatividade dentro dos 250 genes fornecidos como entrada no *Reactome*. Em A, *Reactome* dos 250 genes *up*-regulados obtidos do UALCAN. Em B, *Reactome* dos 250 genes *down*-regulados também obtidos do UALCAN. As vias destacadas em amarelo estão relacionadas aos 250 DEGs (Genes Diferencialmente Expressos) em UCEC.