

FERNANDO CARMONA DINAU

**O IMPACTO DAS CITOCINAS NO MICROAMBIENTE TUMORAL DO
TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado
à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
SP, para obtenção do grau de médico veterinário

Preceptora: Profa. Titular. Noeme Sousa Rocha

Botucatu 2024

FERNANDO CARMONA DINAU

**O IMPACTO DAS CITOCINAS NO MICROAMBIENTE TUMORAL
DO TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da Universidade “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, SP, para obtenção do grau de
médico veterinário

Área de Concentração: Patologia Animal

Preceptora: Profa. Titular. Noeme Sousa Rocha

Coordenador de Estágio: Prof. Dr. Adriano Sakai Okamoto

Botucatu 2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Dinau, Fernando Carmona.

O impacto das citocinas no microambiente tumoral do tumor
venéreo transmissível canino / Fernando Carmona Dinau. -
Botucatu, 2024

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Medicina
Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Noeme Sousa Rocha

Capes: 50503006

1. Cães - Doenças. 2. Microambiente tumoral. 3. Oncologia.
4. Tumores venéreos veterinários. 5. Citocinas.

Palavras-chave: Microambiente; Oncologia; Tumor venéreo
transmissível.

FERNANDO CARMONA DINAU

**O IMPACTO DAS CITOCINAS NO MICROAMBIENTE TUMORAL DO
TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, para obtenção do título de Grau acadêmico Bacharel em Medicina Veterinária.

Área de Concentração: Patologia Animal

Data da defesa: 11 de novembro de 2024

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Noeme Sousa Rocha
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Prof. Dr. Adriano Sakai Okamoto
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Profa. Dra. Camila Michele Appolinário
UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu

Dinau, Fernando C. O impacto das citocinas no microambiente tumoral do tumor venéreo transmissível canino, 2024. 20p. Trabalho de conclusão de curso de graduação (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Patologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O Microambiente Tumoral (TME) é o local em que a neoplasia exerce seus mecanismos de crescimento e evasão do sistema imune, sendo este microambiente composto por fatores celulares e extracelulares, que regem muitas vezes o comportamento neoplásico. As células cancerígenas possuem capacidade de influenciar estes fatores via diversos mecanismos, como por exemplo a expressão de citocinas pró-tumorais ou fatores de crescimento endotelial vascular, que podem auxiliar em processos metastáticos. Portanto, o entendimento dos mecanismos tumorais que influenciam o TME são de extrema importância para estabelecer novas estratégias terapêuticas e previsões de prognóstico, nas mais diversas neoplasias. O presente trabalho revisa a influência que as citocinas possuem no microambiente tumoral (TME), e consequentemente nos mecanismos de progressão e regressão tumoral do Tumor Venéreo Transmissível (TVT), já que esta neoplasia possui uma característica única de transmissão via implantação. Sendo, portanto, um relevante objeto de estudo no contexto do TME.

Palavras-chave: Oncologia; Microambiente; Tumor Venéreo Transmissível

Dinau, Fernando C. The impact of cytokines on the tumor microenvironment of canine transmissible venereal tumor, 2024. 20p. Completion work for undergraduate course (Veterinary Medicine, Concentration Area: Animal Pathology) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Botucatu Campus, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The Tumor Microenvironment (TME) is the place where the neoplasm exerts their mechanisms of growth and immune system evasion. This microenvironment is composed of cellular and extracellular factors, which often govern neoplastic behavior. Cancer cells can influence these factors through various mechanisms, such as the expression of pro-tumor cytokines or vascular endothelial growth factors, which contribute to metastatic processes. Therefore, understanding the tumor mechanisms that affect the TME is extremely important for developing new therapeutic strategies and predicting prognosis in a wide range of neoplasms. This study reviews the influence of cytokines on the tumor microenvironment (TME), and their impact on the mechanisms of tumor progression and regression in Transmissible Venereal Tumor (TVT), a neoplasm that has a unique characteristic of transmission via implantation. Therefore, it is a relevant subject of study in the context of the TME.

Key words: Oncology; Microenvironment; Transmissible Venereal Tumor

Sumário

RESUMO	5
<i>ABSTRACT</i>	6
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. DESENVOLVIMENTO	10
2.1 Comportamento Biológico Tumoral do TVT	10
2.2 Fase de Progressão Tumoral TVT	11
2.3 Fase de Regressão Tumoral TVT	15
3. CONCLUSÃO	17
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TVT = tumor venéreo transmissível

TME = microambiente tumoral

MHC = complexo principal de histocompatibilidade

IL-6 = interleucina-6

TGF- β = fator de crescimento transformador beta

TGF- β 1 = fator de crescimento transformador beta 1

IFN- γ = interferon gama

NK = células natural killer

CTL = linfócitos T citotóxicos

EMT = transdiferenciação epitelial-mesenquimal

VEGF = fator de crescimento endotelial vascular

CTGF = fator de crescimento do tecido conjuntivo

GLUT1 = transportador de glicose 1

VHB = vírus da hepatite B

HCC = carcinoma hepatocelular

pIL-6 = plasmídeo IL-6

IL-15 = interleucina-15

fase P = Fase de Progressão Tumoral

fase R = Fase de Regressão Tumoral

TILs = linfócitos infiltrantes de tumor

1. INTRODUÇÃO

O processo de desenvolvimento neoplásico envolve mecanismos de crescimento e evasão do sistema imunológico. Essas características são resultado, tanto da ação das células cancerígenas, quanto da influência de fatores externos a neoplasia, como por exemplo: tipos celulares (fibroblastos, células imunes, complexos de histocompatibilidade e células endoteliais) e extracelulares (fatores de crescimento, hormônios, citocinas, quimiocinas e matriz extracelular), que formam o Microambiente Tumoral (TME) (HINSHAW & SHEVDE, 2019).

Sendo assim, o TME é o meio no qual a neoplasia se desenvolve, influenciando a progressão, regressão e os mecanismos de metástase do tumor, como também a eficácia terapêutica dos quimioterápicos (WU & DAI, 2017).

Além disso, as células neoplásicas são capazes de liberar sinais extracelulares como citocinas e fatores de crescimento, que podem promover a angiogênese tumoral e induzir tolerância à terapia oncológica (WANG *et al.*, 2018).

Existem vários componentes do TME que contribuem para essa deficiência na ação dos quimioterápicos, como: pH, oxigênio e glicose (ALFAROUK *et al.*, 2015). A perda da capacidade das drogas de matar as células cancerígenas também pode ser devida à falha de ação no local do tumor, envolvendo o TME (LI & DALTON, 2006).

Portanto, os componentes do TME são de extrema relevância para a avaliação do prognóstico, resultado terapêutico e detecção dos processos neoplásicos (ARNETH, 2020). Atualmente, em muitos casos, o alvo terapêutico na oncologia não é somente as células tumorais, mas também as ações que o tumor exerce sobre o Microambiente Tumoral (HUI & CHEN, 2015).

Como a imunoterapia, que utiliza quimiocinas/citocinas, como IL-6 e TGF- β , para promover a eficácia antitumoral que em certas situações pode falhar quando somente é utilizado o tratamento quimioterápico convencional (DOW, 2020).

O Tumor Venéreo Transmissível (TVT) é um modelo muito interessante para avaliação do TME, pois esta neoplasia presente em cães, é um dos únicos modelos tumorais transmissíveis, sendo assim, possui mecanismos de evasão imunológica e implantação tecidual extremamente eficientes, que são influenciados pelo microambiente do TVT (OSTRANDER *et al.*, 2016).

Diante do exposto, esse artigo realizou uma revisão da influência que as citocinas, principalmente IL-6 e TGF- β 1, presentes no TME do TVT exercem na progressão e regressão tumoral e os outros fatores envolvidos nestes processos, que também estão presentes em outras neoplasias humanas e veterinárias.

Esta análise fornece uma visão ampla e diferenciada sobre outros mecanismos que podem gerar atividades pró-tumorais e antitumorais, além da ação das células cancerígenas em si. O objetivo deste estudo é explorar possíveis alvos terapêuticos que podem ser utilizados no TVT e extrapolados para outras neoplasias.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 Comportamento Biológico Tumoral do TVT

O TVT é uma neoplasia de células redondas contagiosa, que afeta predominantemente a área da mucosa genital externa de fêmeas e machos (COHEN, 1985). Ocorre em cães de diferentes faixas etárias, porém, acomete principalmente animais jovens e sexualmente maduros, seja por

implantação de células tumorais viáveis nas membranas mucosas durante o coito, ato de morder, lambear, coçar ou cheirar um animal portador (GANGULY *et al.*, 2016).

Em relação ao seu comportamento biológico, o TVT em regra exibe caráter benigno, no entanto, pode apresentar em algumas condições características de malignidade, sendo que processos metastáticos já foram descritos em órgãos extragenitais como: fígado, rim, linfonodos, cérebro, coração e pele (GANGULY *et al.*, 2016).

Em relação à imunobiologia, o TVT exibe padrão de crescimento previsível que inclui uma fase de progressão (fase P) e outra de regressão (fase R).

A fase de progressão (fase P) é marcada pelo crescimento tumoral, no qual há mecanismos de evasão do reconhecimento imunológico e proliferação celular, sendo que histologicamente podemos observar alta celularidade e pouco estroma (FÊO, 2016)

Já na fase de regressão tumoral (fase R), causada pelo tratamento quimioterápico, principalmente com Vincristina, ou regressão espontânea, podemos observar redução no tamanho do tumor e baixa celularidade e muito tecido stromal ao exame histopatológico (FÊO, 2016).

Tanto as fases P quanto R, são influenciadas pelo microambiente tumoral do TVT, no qual certos mecanismos como expressão de citocinas e células inflamatórias, ditam o comportamento biológico do tumor.

2.2 Fase de Progressão Tumoral TVT

Após implantadas, as células do TVT apresentam mecanismos de evasão do reconhecimento imune, para iniciar a fase de progressão tumoral, sendo esta desencadeada por dois mecanismos. As células do TVT quando implantadas inicialmente produzem o fator de crescimento tumoral $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), citocina que promove a supressão das células natural killer (NK) e impede a infiltração linfocitária (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008) (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2004).

O segundo mecanismo ocorre devido a ausência destes linfócitos infiltrantes. Dessa forma, não há produção de interleucina-6 (IL-6) e IFN- γ e por consequência, não há expressão do complex principal de histocompatibilidade de MCH I e II, responsável pelo reconhecimento imunológico (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Quando o nível de IL-6 secretado por linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) atinge um limiar, inicia-se sua atividade junto com IFN- γ , permitindo a infiltração de linfócitos na neoplasia, ativando a expressão do MHC classe I e II nas células de TVT, dando início a fase R (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Portanto a transição da fase de progressão para a de regressão do TVT é marcada por aumento do infiltrado linfocitário e pela indução da expressão do MHC (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Durante a fase P do TVT, os antígenos MHC de classe I e classe II são raramente expressos, enquanto o fator de crescimento transformador-beta 1 (TGF- β 1) produzido pelas células tumorais é elevado.

Portanto, o TGF- β 1 tem um efeito inibitório na expressão de antígenos MHC de classe I e classe II via supressão de interferon gama (IFN- γ), atenuando assim a função indutiva do IFN- γ de genes de MHC (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Em relação a outras neoplasias, o fator de crescimento tumoral (TGF- β) tem um papel central na promoção tumoral e, ainda, paradoxalmente, também participa na regressão tumoral (CHEN & MISHRA, 2013).

Essa citocina está frequentemente presente no TME, inicialmente como um sinal para prevenir a progressão pré-maligna, mas eventualmente como um fator que as células malignas podem usar em seu próprio benefício (JOAN MASSAGUÉ, 2008).

Os mecanismos mais importantes de progressão tumoral causados por TGF- β são transição/transdiferenciação epitelial-mesenquimal (EMT), evasão do sistema imunológico, promoção da proliferação de células cancerígenas por modulação do microambiente tumoral e controle direto dos linfócitos T citotóxicos (CTL).

Isto ocorre via inibição da expressão de perforina, granzimas e outros produtos gênicos responsáveis pela citotoxicidade tumoral mediada pelos CTL, durante a evasão do sistema imune (CHEN e MISHRA, 2013) (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Esses mecanismos resultam em aumento da invasão e migração de células tumorais que levam à progressão do tumor e à disseminação metastática (CHEN & MISHRA, 2013). Sendo assim, a inibição da influência do TGF- β em relação aos CTL, pode ajudar a restaurar a imunidade tumoral (THOMAS & MASSAGUÉ, 2005).

Um estudo medindo a imunexpressão de TGF- β em camundongos mostrou que o aumento na expressão de TGF- β tanto nas células tumorais quanto o microambiente resultou na amplificação da angiogênese, evidenciando, o papel angiogênico dessa citocina, a partir de fatores como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) (CHEN & MISHRA, 2013).

Evidências clínicas ligam o TGF- β a processos metastáticos. No qual a extensão da expressão de receptores T β RII no câncer de mama, negativo para receptor de estrogênio (ER), está negativamente associada com a sobrevida global (CHEN & MISHRA, 2013). Além disso, maior expressão de TGF- β é observada no câncer de mama metastático do que nos tumores primários.

O TGF- β também possui ações sobre o metabolismo do TME. Estudos, evidenciaram que essa citocina é capaz de modular a disponibilidade de glicose para a célula tumoral, como também desregular os processos de glicólise e gliconeogênese (SHI *et al.*, 2022).

Em tumores pancreáticos, o TGF- β induziu uma maior expressão do transportador de glicose 1 (GLUT1), responsável pela captação de glicose basal, em células neoplásicas. A glicose no contexto neoplásico, é um nutriente essencial para as células tumorais realizarem suas funções e escaparem o estresse por hipóxia e consequentemente o processo de apoptose (SHI *et al.*, 2022).

No entanto, nem todos os estudos apontam para essa mesma direção. Enquanto a estimulação de curto prazo com TGF- β aumenta a formação de metástases, a estimulação de TGF- β crônica reduz as metástases pulmonares (CHEN & MISHRA, 2013).

Foi identificada uma superexpressão do TGF- β em diversos tecidos cancerígenos e linhas de células tumorais, sendo essa citocina um preditor de prognóstico para carcinomas e sarcomas, como carcinoma hepatocelular, glioma, carcinoma colorretal, carcinoma de células escamosas oral, melanoma canino, mastocitoma, câncer de mama e câncer de cólon, entre outros (CHOU et al., 2009) (ZHOU et al., 2020).

O nível alto de expressão de TGF- β 1 foi correlacionado com piores resultados clínicos/prognóstico em pacientes com carcinoma hepatocelular referente ao vírus da hepatite B (VHB) (ZHOU et al., 2020), câncer de mama, carcinoma hepatocelular (HCC) e câncer gástrico (CHEN & MISHRA, 2013).

Por isso, as estratégias anti-TGF- β estão sendo desenvolvidas e testadas em estudos pré-clínicos e até em ensaios clínicos estão sendo realizados para tentar reverter as ações pró tumorais dessa citocina nas neoplasias, como é o caso do TVT.

Em um estudo foi testado se o TGF- β estava envolvido na inibição da expressão do antígeno MHC no microambiente tumoral do TVT. Após a incubação com o anticorpo específico anti TGF- β , a expressão de antígenos MHC classe I e II nas células tumorais isoladas de seis cães diferentes aumentou significativamente em relação às células não tratadas, evidenciando a importância da ação do TGF- β para a evasão do sistema imune e não reconhecimento imunológico, via MHC (HSIAO, Ya Wen et al., 2008).

Portanto, a citocina TGF- β , juntamente com outros fatores do microambiente tumoral são de extrema importância para o mecanismo de progressão tumoral do TVT. Sendo assim, o alvo terapêutico dessa citocina pode ser uma opção para combater a evolução neoplásica.

2.3 Fase de Regressão Tumoral TVT

Na fase R, quando a IL-6 secretada pelos TILs atinge concentrações adequadas no TME sua atividade associada a IFN- γ , permite a infiltração de linfócitos na neoplasia. A infiltração linfocitária, denominada de TIL, é responsável por estimular a expressão do MHC classe I e II nas células de TVT, gerando o reconhecimento imunológico e consequentemente a fase de regressão tumoral (FÊO, 2016).

Sendo assim, acredita-se que a produção de IL-6 seja crítica para forçar o TVT a entrar na fase de regressão (CHOU *et al.*, 2009), pois além de aumentar a expressão de MHC, a IL-6 produzida pelo TIL no TVT, aumenta também a resposta imune do hospedeiro.

Durante a regressão de TVT, altas concentrações de IL-6 secretadas por TILs bloqueiam a ação de TGF- β 1 (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008). Além disso, já foi demonstrado que *in vitro*, a IL-6 em sinergismo com interferon- γ (IFN- γ) pode induzir a expressão de MHC nas células do TVT (FÊO, 2016).

A IL-6 é produzida por vários tipos de células, como monócitos, macrófagos, células de Kupffer, queratinócitos, células endoteliais, células B, células T, fibroblastos e células do endotélio vascular (CHONOV *et al.*, 2019). Sua produção é estimulada, principalmente, por antígenos que atuam por meio de receptores localizados nos linfócitos T ou B (FÊO, 2016).

A IL-6 é reconhecida como uma linfocina predominante que determina a sobrevivência proliferativa e as características efetoras das células T e B, mas também controla a imunidade adaptativa e inata (JONES *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a IL-6 é caracterizada por sua capacidade de controlar a sobrevivência, proliferação e diferenciação de células e pode direcionar resultados pró-inflamatórios e anti-inflamatórios em infecção, autoimunidade e câncer (FERNANDO & GASPAR, 2005).

As funções tumorais da IL-6 dependem das fontes ou do tipo de tumor. Como o TGF- β , essa citocina pode aumentar o crescimento tumoral ou auxiliar a imunidade do hospedeiro contra células tumorais e promover o crescimento do câncer por angiogênese, mediada pelo VEGF, e outros fatores (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Com isso, algumas pesquisas tiveram como objetivo elucidar melhor o papel da IL-6 na terapia clínica do TVT. Um estudo foi conduzido aplicando o conceito de IL-6 antagonizando o TGF- β 1, a um experimento *in vivo*. Foi usado o plasmídeo IL-6 (pIL-6) junto com o plasmídeo IL-15 para antagonizar o TGF- β 1 e assim ativar a citotoxicidade das células T e das células NK, nos cães com TVT, demonstrando, que a combinação de pIL-6/pIL-15 com administração intra-tumoral mediada por eletroporação regrediu totalmente o tumor com sucesso (CHOU *et al.*, 2009).

Um outro estudo foi demonstrado que o efeito anti-TGF- β 1 da IL-6 restaura a capacidade do IFN- γ de promover a expressão do antígeno MHC classe I e II. O IFN- γ sozinho faz pouco na promoção da expressão do MHC durante a progressão do tumor (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

No entanto, o tratamento associado do IL-6 com IFN- γ (IL-6 / IFN- γ) aumenta acentuadamente a expressão de antígenos MHC nas células tumorais do TVT (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2008).

Em conclusão, o TVT secreta TGF- β 1 para inibir a atividade dos TILs e escapar da imunovigilância do hospedeiro, permitindo que o tumor se desenvolva vigorosamente.

Porém com o tempo, os TILs são capazes de expressar concentrações mais altas de IL-6, antagonizando a ação do TGF- β 1. Este mecanismo, no qual os TILs expressam altas concentrações de IL-6 para bloquear a atividade tumoral do TGF- β 1, tem aplicações potenciais na imunoterapia do TVT e no câncer (HSIAO, Ya Wen *et al.*, 2004).

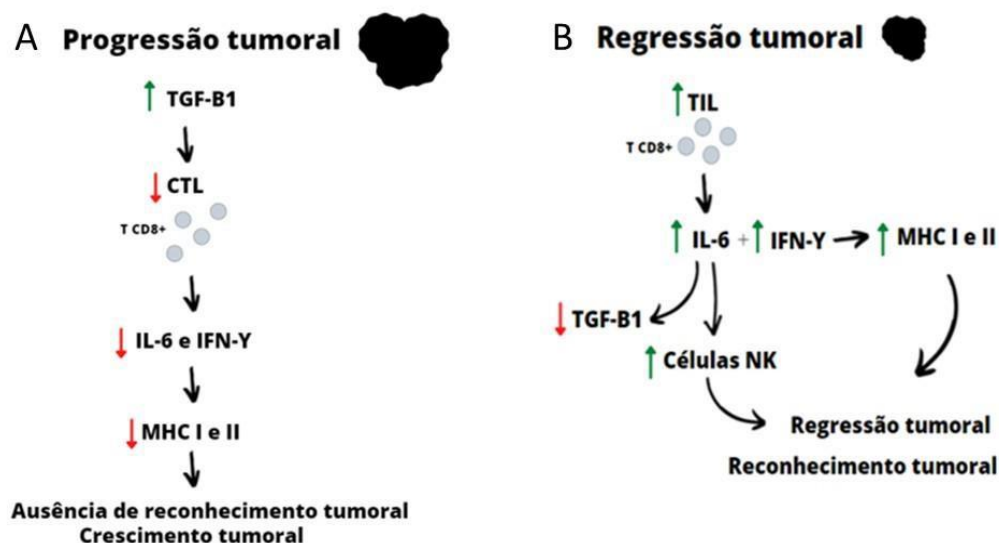


Figura 1 - Esquema representativo das fases do tumor venéreo transmissível: (A) Progressão tumoral; evidenciando o papel do TGF- β 1 como fator de crescimento neoplásico do CTVT. (B) Regressão tumoral; evidenciando ação das citocinas e TILs (linfócitos infiltrantes de tumor) na inibição do crescimento neoplásico e reconhecimento imune das células cancerígenas, via expressão do complexo principal de histocompatibilidade (MHC).

3. CONCLUSÃO

O TVT é um ótimo objeto de estudo para se entender o microambiente tumoral, já que se trata de uma neoplasia transmissível com mecanismos de progressão e regressão previsíveis e bem estabelecidos.

Esta compressão do TME referente ao TVT pode ser extrapolada para outras neoplasias. Contudo, mesmo assim, é necessário estudo individualizado de cada neoplasia, já que fatores extracelulares e celulares, podem exercer diferentes efeitos oncogênicos, dependendo do processo neoplásico.

Portanto, a visão ampla dos mecanismos extra tumorais que afetam o desenvolvimento neoplásico são de extrema relevância para o surgimento de novas terapias, envolvendo por exemplo as citocinas IL-6 e TGF- β , para tratar neoplasias resistentes ao tratamento convencional.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ALFAROUK, Khalid O. *et al.* Resistance to cancer chemotherapy: Failure in drug response from ADME to P-gp. **Cancer Cell International**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2015.

ARNETH, Borros. Tumor Microenvironment. **Medicina**, v. 56, n. 15, p. 1–21, 2020.

CHEN, Jian e MISHRA, Lopa. Targeting TGF- β signaling in cancer. **National Institutes of Health**, v. 17, n. 7, p. 743–760, 2013.

CHOU, Pei Chung *et al.* Effects of immunotherapy of IL-6 and IL-15 plasmids on transmissible venereal tumor in beagles. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 130, n. 1–2, p. 25–34, 2009.

COHEN, D. The Canine Transmissible Venereal Tumor: A Unique Result of Tumor Progression. **Advances in Cancer Research**, v. 43, p. 75–112, 1985.

DOW, Steven. A Role for Dogs in Advancing Cancer Immunotherapy Research. **Fro tiers in Immunology**, v. 10, p. 1–8, 2020.

FÊO, Haline Ballesterio. **TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO: EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS COM O COMPORTAMENTO BIOLÓGICO E MICROAMBIENTE TUMORAL**. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, p. 1–125, 2016.

FERNANDO, Luiz e GASPAR, Jantzen. **CARACTERIZAÇÃO CITOMORFOLÓGICA DO TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO CORRELACIONADA COM DANOS CITOGENÉTICOS, TAXA DE PROLIFERAÇÃO E RESPOSTA CLÍNICA À QUIMIOTERAPIA**. Tese. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, p. 1–157, 2005.

*Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT – NBR 14724)

GANGULY, B. e DAS, U. e DAS, A. K. Canine transmissible venereal tumour: A review. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 2016.

HINSHAW, Dominique C. e SHEVDE, Lalita A. The tumor microenvironment innately modulates cancer progression. **Cancer Research**, v. 79, n. 18, p. 4557–4567, 2019.

HSIAO, Ya Wen *et al.* Interactions of host IL-6 and IFN- γ and cancer-derived TGF- β 1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 57, n. 7, p. 1091–1104, 2008.

HSIAO, Ya-Wen. *et al.* Tumor-Infiltrating Lymphocyte Secretion of IL-6 Antagonizes Tumor-Derived TGF- β 1 and Restores the Lymphokine-Activated Killing Activity. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 3, p. 1508–1514, 2004.

HUI, Lanlan e CHEN, Ye. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil. **Cancer Letters**, v. 368, n. 1, p. 7–13, 2015.

JOAN MASSAGUÉ. TGF β in Cancer. **National Institutes of Health**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008.

JONES, Simon A. *et al.* Interleukin 6: The biology behind the therapy. **Considerations in Medicine**, v. 2, n. 1, p. 2–6, 2018.

LI, Zhi Wei e DALTON, William S. Tumor microenvironment and drug resistance in hematologic malignancies. **ELSEVIER**, v. 20, n. 6, p. 333–342, 2006.

OSTRANDER, Elaine A. e DAVIS, Brian W. e OSTRANDER, Gary K. Transmissible Tumors: Breaking the Cancer Paradigm. **Trends in Genetics**, v. 32, n. 1, p. 1–15, 2016.

SHI, Xueke. *et al.* TGF- β signaling in the tumor metabolic microenvironment and targeted therapies. **Journal of Hematology and Oncology**, v. 15, n. 1, p. 1-39, 2022.

THOMAS, Dori A. e MASSAGUÉ, Joan. TGF- β directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. **Cancer Cell**, v. 8, n. 5, p. 369–380, 2005.

WANG, J. J. e LEI, K. F. e HAN, F. Tumor microenvironment: Recent advances in various cancer treatments. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 12, p. 3855–3864, 2018.

WU, Ting e DAI, Yun. Tumor microenvironment and therapeutic response. **Cancer Letters**, v. 387, p. 61–68, 2017.

ZHOU, Junhan. *et al.* Prognostic Values of Transforming Growth Factor-Beta Subtypes in Ovarian Cancer. **BioMed Research International**, p. 1–12, 2020.