

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/08/2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Paula de Sanctis

**Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC):
estudo do perfil transcricional**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Ciências.

Orientadora: Profa. Assoc. Noeme Sousa Rocha
Coorientador: Prof. Adj. João Pessoa Araújo Junior
Coorientadora: Dra. Joyce Regina Zapaterini

**Botucatu
2020**

Paula de Sanctis

Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC):
estudo do perfil transcricional

Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestra em Ciências.

Orientadora: Profa. Assoc. Noeme Sousa Rocha
Coorientador: Prof. Adj. João Pessoa Araújo Junior
Coorientadora: Dra. Joyce Regina Zapaterini

Botucatu
2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA DESDE QUE CITADA A FONTE. OBRIGADA.

| | |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| S212t | <p>Sanctis, Paula de Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC): : estudo do perfil transcricional / Paula de Sanctis. -- Botucatu, 2020 78 p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina, Botucatu Orientadora: Noeme Sousa Rocha Coorientador: João Pessoa Araújo Junior; Joyce Regina Zapaterini</p> <p>1. Cão, 2. Tumor Venéreo Transmissível. 3. Transcriptoma. 4. Genes. 5. Progressão; Resposta imune.</p> |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

PAULA DE SANCTIS

TUMOR VENÉREO TRANSMISSÍVEL CANINO (TVTC): ESTUDO DO PERFIL TRANSCRICIONAL

Dissertação apresentada a Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Ciências pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia.

Orientadora: Profa. Assoc. Noeme Sousa Rocha

Coorientador: Prof. Adj. João Pessoa Araújo Junior

Coorientadora: Dra. Joyce Regina Zapaterini

Coautor: Prof. Dr. Luis Mauricio Montoya Flórez

Coautora: Dra. Taís Fukuta da Cruz

Parcerias: Laboratório de Virologia e Diagnóstico Molecular (IBTEC–UNESP), Laboratório de Carcinogênese Química e Experimental (LCQE–IBB–UNESP), Grupo de Simulação e Modelagem Computacional da UNESP, Campus de Itapeva e Universidad Nacional de Colômbia, Bogotá, Colômbia.

Comissão examinadora:

Prof. Adj. Paulo Ricardo de Oliveira Bersano
Departamento de Patologia Veterinária
Faculdade de Veterinária - UECE - São Paulo

Prof. Assoc. José Maurício Sforcin
Departamento de Microbiologia e Imunologia
IB – UNESP – Botucatu

Botucatu, 25 de agosto de 2020

Dedicat6ria

Em especial, aos meus pais, Vera Lúcia Rossi Lázaro de Sanctis e Paulo Sérgio de Sanctis, à minha irmã e melhor amiga, Fernanda de Sanctis, e ao meu amado namorado Leonardo Matheus Quinzote Augusto por fazerem parte dessa etapa tão importante da minha vida, pelo amor, carinho enorme, dedicação e apoio nos momentos mais difíceis. Vocês sempre acreditaram no meu potencial, me incentivaram a dar sempre o melhor de mim e não desanimar por qualquer dificuldade. Amo muito vocês!

Aos meus amados Simba, Mirtis, Mateo, Brenda e Fumaça (*in memoriam*), dos quais tenho uma saudade infinita e aos animais que participaram involuntariamente deste estudo.

À Profa. Assoc. Noeme Sousa Rocha, minha orientadora, pelo comprometimento, apoio, incentivo, ensinamentos acadêmicos e pessoais, assim como pela incrível profissional e pessoa que é. Devo muito do que sei e aprendi a senhora desde a minha iniciação científica.

A todos do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, em especial ao Prof. Dr. Luis Mauricio Montoya Flórez e ao Me. Anderson do Prado Duzanski, que estiveram comigo no Laboratório de Patologia Investigativa e Comparada, vocês foram parte essencial deste trabalho.

A todos do Laboratório de Carcinogênese Química e Experimental, em especial a minha coorientadora, Dra. Joyce Regina Zapaterini, por toda ajuda, paciência, ensinamentos, grande dedicação e pela pessoa maravilhosa que é.

A todos que se dedicaram e contribuíram de alguma forma para tornar este trabalho possível.

Agradecimientos

Aos meus pais por todo suporte, paciência e incondicional apoio ao longo desses anos. Sem vocês nada teria sido possível. Ao incentivo da minha irmã e do meu namorado, pois sem vocês teria sido mais difícil.

À minha orientadora Profa. Noeme Sousa Rocha pela oportunidade de realizar este trabalho, dedicação, paciência, incentivo, contribuição científica, pelos ensinamentos que ficarão para vida toda e por ser parte essencial deste trabalho que proporcionará muitos mais estudos sobre este tema.

Ao pessoal do meu Laboratório, em especial ao Me. Anderson do Prado Duzanski e ao Prof. Dr. Luis Mauricio Montoya Flórez pela ajuda, ensinamentos e amizade cultivada.

Aos tutores dos animais que aceitaram que estes pudessem ser a fonte de estudo deste trabalho, bem como aos animais e ao Departamento de Cirurgia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em especial aos residentes e à Profa. Adj. Cláudia Valéria Seullner Brandão por todo apoio e auxílio na coleta de material.

Ao Prof. Adj. João Pessoa Araújo Junior pela disponibilização do Laboratório de Virologia e Diagnóstico Molecular, ensinamentos e grande atenção. A Dra. Taís Fukuta da Cruz por todo apoio no desenvolvimento deste trabalho, paciência, ensinamentos e pela amizade cultivada, assim como ao Dr. Bruno César Rossini pela atenção, auxílio técnico e metodológico.

Ao Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da UNESP, em especial aos Professores Maeli Dal Pai, Robson Francisco Carvalho e Luís Fernando Barbisan, assim como ao Dr. Tony Fernando Grassi e ao Dr. Bruno Oliveira da Silva Duran pelos ensinamentos e apoio.

A Dra. Joyce Regina Zapaterini pelos ensinamentos, comprometimento, dedicação e grande apoio neste estudo, assim como

ao Prof. Assist. Dr. André Luis Debiaso Rossi do Grupo de Simulação e Modelagem Computacional da UNESP de Itapeva, pela colaboração, paciência em ensinar e pela dedicação neste trabalho.

Ao Prof. Assoc. José Maurício Sforcin e à Dra. Daniela Cristina dos Santos por participarem da banca de exame geral de qualificação e pela grande contribuição na melhoria deste estudo.

À Faculdade de Medicina de Botucatu pela oportunidade e por tudo o que aprendi tanto nas disciplinas quanto nos laboratórios. Sei que cresci muito aqui tanto pessoalmente quanto profissionalmente.

Ao Prof. Adj. Paulo Ricardo de Oliveira Bersano e ao Prof. Assoc. José Maurício Sforcin pela gentileza em participarem da banca e pela grande contribuição na melhoria deste estudo.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, em especial a Vânia do Amaral Soler pela paciência e proatividade.

Aos funcionários da Biblioteca pela atenção, ajuda, dedicação e por todos esses anos que passei estudando e sempre aprendo muito lá, assim como pela confecção da ficha catalográfica.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste estudo (445250/2014-3) e pela bolsa de estudo (133452/2018-2).

A todos que contribuíram de alguma forma para tornar este trabalho possível e torceram para o sucesso deste.

Muito obrigada!

Epigrafe

“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje, mas nunca deixe de seguir em frente”.

(Martin Luther King)

“Se você encontrar um caminho sem obstáculos, ele provavelmente não leva a lugar nenhum.”

(Frank A. Clark)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática do processo de carcinogênese. A ação de agentes iniciadores (iniciação) causa alterações na estrutura do material genético celular e no nível populacional, tornando as células mais propensas a sofrer novas alterações. Segue-se com a mudança na dinâmica de divisão celular, a ação de agentes promotores, acúmulo de novas alterações (promoção), heterogeneidade genética (transformação), instabilidade genética, elevada taxa proliferativa e capacidade de invasão e metástase (progressão) (adaptado de Hlatky; Hahnfeldt, 2014).....27
- Figura 2.** Estimativa de casos de Tumor Venéreo Transmissível Canino em diferentes países. Cada ponto corresponde a uma faixa percentual de ocorrência (retirado de Strakova; Murchison, 2014).....28
- Figura 3.** Tumor Venéreo Transmissível Canino. Histologia (A): Pleomorfismo celular, núcleo e nucleolos proeminentes (seta tracejada), atipias de coilocitose. Coloração HE. Citologia (B): Células redondas, pleomórficas, célula de aspecto plasmocitoide (seta tracejada), célula em divisão (seta preta). Coloração Giemsa, (ZEISS®) (Arquivo FMVZ).....46
- Figura 4.** Interação de CXCL8 com o microambiente tumoral: estímulo da angiogênese, invasão e migração, recrutamento de neutrófilos (retirado de Santoni *et al.*, 2014).....56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. MA-plot da distribuição dos coeficientes estimados da expressão gênica baseada no \log_2 fold change (FC > 2) do TVTC em relação ao tecido sadio. O eixo das abcissas mostra a média de contagem normalizada por fator de tamanho e o eixo das ordenadas mostra a comparação por \log_2 fold change (\log_2 FC). Cada gene é representado por um ponto. Genes em vermelho com valor de p ajustado (*false discovery rate* – FDR) acima de 0 no eixo das ordenadas são genes *upregulated* e abaixo de 0 são *downregulated*.....50

Gráfico 2. Heat map das amostras de Tumor Venéreo Transmissível Canino pelo método de distância Euclidiana, sendo P10 e P11 amostras de tecido sadio e as demais de tecido tumoral. Há maior semelhança entre os grupos sadio e tumoral com exceção de P23.....51

LISTA DE TABELAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Dados clínicos dos cães com TVTC quanto a idade (anos), sexo, raça, localização e tamanho do tumor, classificação citomorfológica e resposta ao tratamento..... | 48 |
| Tabela 2. Qualidade do RNA extraído das amostras de Tumor Venéreo Transmissível Canino quanto a integridade do RNA (RIN), absorbância nas relações 260/280 nm e 260/230 nm e concentração (ng/μL)..... | 49 |
| Tabela 3. Genes <i>upregulated</i> no Tumor Venéreo Transmissível Canino. Identificação do gene (EntrezGene ID), símbolo, descrição (função biológica) e p-valor..... | 52 |
| Tabela 4. Genes <i>downregulated</i> no Tumor Venéreo Transmissível Canino. Identificação do gene (EntrezGene ID), símbolo, descrição (função biológica) e p-valor..... | 54 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Preservou-se a grafia em inglês de algumas siglas, uma vez que seu consagrado uso em comunicações científicas permite que sejam mais prontamente assimiladas. Nos demais casos, é apresentada a grafia em português.

ALC - Antígeno leucocitário canino

ATAD5 - *ATPase Family AAA Domain Containing 5*

BRCA1 - *Breast cancer 1*

°C - Graus Celsius

CBLB - *Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene-b*

CD300LF - *CD300 Molecule Like Family Member F*

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

cm - Centímetro

CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CORO1A - *Coronin 1A*

CXC - *Cys-X-Cys (family)*

CXCL7 - *Chemokine ligand 7*

CXCL8 - *Chemokine ligand 8*

CXCL13 - *Chemokine ligand 13*

CXCL14 - *Chemokine ligand 14*

DDIAS - *DNA damage induced apoptosis suppressor*

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DNAc - DNA complementar

DTL - *Denticleless E3 ubiquitin protein ligase homolog*

FABP4 - *Fatty acid binding 4*

FC - *Fold change*

FDR - *False Discovery Rater*

FMB - Faculdade de Medicina de Botucatu

FMVZ - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

GADD45(G) - *Growth arrest and DNA damage inducible gamma*

HE - Hematoxilina-Eosina

HMMR - *Hyaluronan mediated motility receptor*

HPV - Papiloma Vírus Humano

IBTEC - Instituto de Biotecnologia

IL-1 - Interleucina 1

IL18RAP - *Interleukin 18 receptor accessory protein*

IL-6 - Interleucina 6

IL-8 - Interleucina 8

INF- γ - *Interferon γ*

IKZF1 - *IKAROS family zinc finger 1*

LPIC - Laboratório de Patologia Investigativa e Comparada

m² - Metro quadrado

mg - Miligrama

MHC - Complexo principal de histocompatibilidade

mL - Mililitro

NCAM1 - *Neural cell adhesion molecule 1*

nm - Nanometro

NFATC2 - *Nuclear factor of activated T cells 2*

NK - *Natural killer*

PAFF - Punção aspirativa por agulha fina

pb - Pares de base

PCA - Análise dos componentes principais

p53 - *Tumor protein p53*

R - Resistente

RAD51AP1 - *RAD51 associated protein 1*

RASSF2 - *Ras association domain family member 2*

RBL1 - *RB transcriptional corepressor like 1*

RC - Resposta completa

RIN - *RNA Integrity Number*

RNA - Ácido ribonucleico

RNA_m - RNA mensageiro

RNASEL - *Ribonuclease L*

RNA-seq - Sequenciamento do RNA

RP - Resposta parcial

RPKM - *Reads or fragments per kilobase exon per million reads*

rpm - Rotações por minuto

RRM2 - *Ribonucleotide reductase regulatory subunit M2*

RT-qPCR - Reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real

SEMA4D - *Semaphorin 4D*

SKAP2 - *Src kinase associated phosphoprotein 2*

SLBP - *Stem-loop binding protein*

SRD - Sem raça definida

TA - Temperatura ambiente

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF- α - Fator de necrose tumoral α

TNFRSF8 - *TNF receptor superfamily member 8*

TNFRSF19 - *TNF receptor superfamily member 19*

TPX2 - *TPX2, microtubule nucleation factor*

TRPM1 - *Transient receptor potential cation channel subfamily M member 1*

TVTC - Tumor Venéreo Transmissível Canino

UHRF1 - *Ubiquitin like with PHD and ring finger domains 1*

μ L - Microlitro

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

VTCN1 - *V-set domain containing T cell activation inhibitor 1*

RESUMO

SANCTIS, P. **Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTC): estudo do perfil transcricional**. 2020. 78 f. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, Botucatu, 2020.

O Tumor Venéreo Transmissível Canino é uma neoplasia que tornou-se ponto de partida para o estudo da oncologia a partir do século XIX pelo sucesso no transplante experimental. No entanto, dados sobre diferenças genéticas são escassos, sendo importante o estudo do perfil genômico para identificar alterações no genoma, marcadores prognósticos e, conseqüentemente, melhorar o diagnóstico e a resposta terapêutica. Diante do exposto, realizou-se o sequenciamento deste tumor e avaliou-se o envolvimento dos genes na progressão e evasão da resposta imune, principalmente, sendo eventos pouco explorados neste tumor. Para tal, foram utilizadas doze amostras de cães com diagnóstico de Tumor Venéreo Transmissível Canino, sem predileção por raça e sexo, com idade a partir de dois anos e sem nenhum tratamento prévio. Por meio da biópsia da lesão, realizou-se a extração do RNA total, sequenciamento e posterior análise do transcriptoma por técnicas de bioinformática por meio dos softwares R, STAR e Bioconductor, sendo a análise da expressão diferencial realizada pelo pacote DEseq2 com $p < 0,05$, $\log_2 \text{fold change} > 2$. Ao final, foram identificados os genes diferencialmente expressos e na análise do perfil global, observou-se que tais genes estão relacionados com progressão, evasão da resposta imune, supressão da apoptose e falta de reparo do DNA, sendo a maioria marcadores prognósticos de outros tipos tumorais, como BRCA1, ATAD5, CXCL8, GADD45G, RASSF2 e TPX2, o que demonstra a necessidade de estudos acerca de marcadores para este tumor.

Palavras-chave: Cão; Tumor Venéreo Transmissível; Transcriptoma; Genes; Perfil transcricional; Progressão; Resposta imune; BRCA; ATAD5; CXCL8; GADD45G; RASSF2; TPX2.

ABSTRACT

SANCTIS, P. **Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT): study of the transcriptional profile.** 2020. 78 f. Masters Dissertation – Medicine School Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, Botucatu, 2020.

Canine Transmissible Venereal Tumor is a neoplasm that became a starting point for the study of oncology since the 19th century due to its success in experimental transplantation. However, data on genetic differences are scarce, and it is important to study the genomic profile to identify changes in the genome, prognostic markers and, consequently, improve diagnosis and therapeutic response. In view of this, this tumor was sequenced and the involvement of genes in the progression and evasion of immune response was evaluated, mainly, with little explored events in this tumor. For this purpose, twelve samples of dogs with a diagnosis of Canine Transmissible Venereal Tumor were used, without predilection for race and sex, aged from two years and any previous treatment. Through the biopsy of the lesion, the total RNA was extracted, sequenced and subsequent analysis of the transcriptome by bioinformatics techniques using software R, STAR and Bioconductor, with the analysis of the differential expression performed by DESeq2 package with $p < 0.05$, \log_2 fold change > 2 . At the end, differentially expressed genes were identified and in the analysis of the global profile, it was observed that such genes are related to progression, evasion of the immune response, suppression of apoptosis and lack of DNA repair, the majority being prognostic markers of other tumor types, such as BRCA1, ATAD5, CXCL8, GADD45G, RASSF2 and TPX2, which demonstrates the need for studies on markers for this tumor.

Keywords: Dog; Transmissible Venereal Tumor; Transcriptome; Genes; Progression; Immune response; BRCA; ATAD5; CXCL8; GADD45G; RASSF2; TPX2.

SUMÁRIO

| | |
|--------------------------------------------------------------|-----------|
| LISTA DE FIGURAS | xii |
| LISTA DE GRÁFICOS | xiii |
| LISTA DE TABELAS | xiv |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | xv |
| CAPÍTULO 1 | |
| 1. INTRODUÇÃO | 24 |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA | |
| 2.1. O processo de carcinogênese..... | 25 |
| 2.2. Tumor Venéreo Transmissível Canino..... | 27 |
| 2.3. Transcriptoma e sequenciamento de RNA (RNA-seq)..... | 32 |
| 2.4. Alvos moleculares diagnósticos e terapêuticos..... | 35 |
| 3. OBJETIVOS | |
| 3.1. Objetivo geral..... | 37 |
| 3.2. Objetivos específicos..... | 37 |
| 4. JUSTIFICATIVA E PERSPECTIVAS | 37 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS | |
| 5.1. Origem do material de estudo e aspectos éticos..... | 39 |
| 5.2. Avaliação clínica dos pacientes com TVTC..... | 39 |
| 5.3. Análise do comportamento biológico do TVTC..... | 39 |
| 5.4. Extração de RNA total e obtenção de RNAm..... | 40 |
| 5.5. Obtenção do DNAc e técnica de RNA-seq..... | 43 |
| 5.6. Análises de Bioinformática e Estatística..... | 44 |
| 5.7. Análise dos genes diferencialmente expressos..... | 45 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO | |
| 6.1. Controle de qualidade diagnóstico e dados clínicos..... | 46 |
| 6.2. Expressão diferencial de genes no TVTC..... | 48 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.3. Perfil transcricional do TVTC..... | 51 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 58 |
| CAPÍTULO 2 | |
| 8. ARTIGO CIENTÍFICO..... | 63 |
| 9. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURA..... | 68 |
| ANEXOS | |
| ANEXO A – Atestado da Comissão de Ética no Uso de Animais..... | 70 |
| ANEXO B – Atestado da Comissão de Ética no Uso de Animais (alteração de título)..... | 71 |

Apresentação

A presente dissertação foi subdividida em dois capítulos. O primeiro traz a introdução, revisão bibliográfica, objetivos, metodologia empregada, resultados obtidos e a discussão destes. O segundo capítulo consiste no manuscrito redigido para submissão em periódico científico e ao final traz as interpretações gerais do estudo no item *Conclusão*.

Capítulo 1

1. Introdução

O Tumor Venéreo Transmissível Canino trata-se de uma neoplasia de células redondas de origem mesenquimatosa, a qual, diferentemente de outras neoplasias, parece não expressar a fase de iniciação, uma vez que se trata de uma lesão já neoplásica que se instala em mucosas que perderam a integridade.

Acredita-se que transmissão do tumor ocorra por meio da implantação de células tumorais de um animal para outro principalmente de forma venérea como também pode ocorrer via arranhadura, lambedura ou contato direto entre a pele e mucosa lesionada seja de um animal para outro ou do animal para ele próprio, de modo a causar mais lesões.

O estudo desta neoplasia se faz importante agregado à existência de marcadores moleculares de alta especificidade que podem esclarecer o seu comportamento biológico *in vivo* e, desta forma, auxiliar na compreensão de sua forma de transmissão, a qual ainda não está totalmente esclarecida, assim como incentivar a busca de novos enfoques terapêuticos para os casos resistentes à quimioterapia com sulfato de vincristina.

Nesse sentido, o sequenciamento em larga escala do Tumor Venéreo Transmissível Canino pode trazer informações adicionais relacionadas ao transcriptoma, o que inclui e expressão de genes específicos, bem como a identificação de novos genes e a relação destes com a progressão tumoral, a evasão da resposta imune do hospedeiro e implantação das células tumorais, por exemplo.

Por fim, a partir dessas abordagens, espera-se contribuir na pesquisa em oncologia comparada e acredita-se que este estudo poderá servir para compreender a gênese e possível evolução biológica de outros tipos de tumores tanto nos animais quanto nos seres humanos.