



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS**



**RAFAEL LIMA SANTOS**

Investigação da expressão e distribuição de moléculas de adesão celular no  
microambiente tumoral de melanoma

**UBERLÂNDIA-MG 2025**

**RAFAEL LIMA SANTOS**

Investigação da expressão e distribuição de moléculas de adesão celular no microambiente tumoral de melanoma

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, apresentado à coordenação do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Jair Pereira da Cunha Junior

**UBERLÂNDIA-MG 2025**

Investigação da expressão e distribuição de moléculas de adesão celular no  
microambiente tumoral de melanoma

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado  
para obtenção do título de Licenciado em  
Ciências Biológicas pela Universidade  
Federal de Uberlândia.

Uberlândia-MG, de setembro de 2025.

Banca avaliadora formada por:

---

Prof. Dr. Jair Pereira da Cunha Júnior – ICBIM/UFU

---

Prof. Dr. Nilson Nicolau Junior – IBTEC/UFU

---

Prof. Dr. Luiz Fernando Moreira Izidoro – FAMED /UFU



## UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Curso de Graduação em Ciências Biológicas -  
Uberlândia

Rua Ceará, s/n, Bloco 2D, Sala 30 - Bairro Umuarama, Uberlândia-MG, CEP 38400-902  
Telefone: 3225-8638 - graduacao@inbio.ufu.br



### ATA DE DEFESA - GRADUAÇÃO

Curso de Graduação em:	Ciências Biológicas: Licenciatura Integral				
Defesa de:	Trabalho de Conclusão de Curso II - INBIO31804				
Data:	17/09/2025	Hora de início:	14:00	Hora de encerramento:	15:28
Matrícula do Discente:	12121BIO004				
Nome do Discente:	Rafael Lima Santos				
Título do Trabalho:	Investigação da expressão e distribuição de moléculas de adesão celular no microambiente tumoral de melanoma				
A carga horária curricular foi cumprida integralmente?		( x ) Sim ( ) Não			

Reuniu-se na Sala 2B213, Campus Umuarama, da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Curso de Graduação em Ciências Biológicas, assim composta: Professores: Nilson Nicolau Junior - IBTEC/UFU; Luiz Fernando Moreira Izidoro - FAMED/UFU; Jair Pereira da Cunha Junior - ICBIM/UFU orientador do candidato.

Iniciando os trabalhos, o presidente da mesa, Dr. Jair Pereira da Cunha Junior, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato, agradeceu a presença do público, e concedeu ao discente a palavra, para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do curso.

A seguir o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o candidato. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o candidato:

( X ) Aprovado(a) sem nota.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Jair Pereira da Cunha Junior**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 17/09/2025, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Fernando Moreira Izidoro, Professor(a) do Magistério Superior**, em 17/09/2025, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Nilson Nicolau Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 17/09/2025, às 15:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6669453** e o código CRC **815C3797**.

---

**Referência:** Processo nº 23117.036696/2024-86

SEI nº 6669453

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, em primeiro lugar, à minha mãe, a pessoa mais forte que conheço, por todo o amor, dedicação e esforço que sempre demonstrou ao longo da vida e por me ensinar a ser quem sou. Minha formação se deve a ela e ao orgulho que tenho de sua trajetória, que sempre me inspirou a continuar e acreditar em mim. Aos meus avós, deixo meu reconhecimento pelo apoio constante e pelos momentos felizes que compartilhamos. À minha avó, agradeço pelo carinho, atenção e cuidados fundamentais em minha vida. Ao meu avô, agradeço pelas conversas, pelo incentivo incondicional e por ser o melhor amigo que eu poderia ter.

À minha companheira, agradeço profundamente por estar sempre ao meu lado, especialmente nos momentos mais desafiadores e quando eu mesmo duvidava de mim. Seu amor e apoio me deram forças para seguir adiante, e compartilhar a vida com você tornou cada passo deste trajeto ainda mais especial.

Ao meu padrinho, que me ajudou a crescer e esteve presente em tantos momentos da minha vida, agradeço por todo carinho, atenção e orientação. Grande parte do que sou e de tudo que conquistei se deve ao cuidado e afeto que sempre me dedicou. Ao meu primo, que cresceu comigo e se tornou um amigo inseparável, agradeço por estar presente em todas as fases da minha vida e pela amizade que compartilhamos desde sempre.

Estendo meus agradecimentos ao meu orientador, Prof. Dr. Jair Pereira da Cunha Júnior, pela dedicação, paciência e confiança depositada em mim ao longo deste trabalho. À banca avaliadora, registro minha gratidão pela disponibilidade e pelas contribuições valiosas para o aprimoramento deste estudo. Agradeço ainda à Universidade Federal de Uberlândia e ao Instituto de Biologia pela formação acadêmica e pelas oportunidades essenciais na minha trajetória.

Por fim, agradeço aos meus amigos, incluindo aqueles que, mesmo distantes, sempre me prestaram apoio e fizeram parte da minha vida, tornando essa jornada mais leve e significativa.

*“Se vi mais longe foi por estar  
sobre ombros de gigantes”.*  
- Isaac Newton

## RESUMO

O melanoma cutâneo é um câncer de pele conhecido pela alta agressividade e potencial metastático, estes processos são mediados por moléculas de adesão celular presentes no microambiente tumoral. Este estudo avaliou a expressão de seis moléculas de adesão em dados públicos de melanoma murino e humano, sendo elas: ICAM-1, ICAM-2, NCAM-1, VCAM-1, PECAM-1 e MCAM. No modelo murino (B16F10), utilizou-se um banco de dados público de RNA-seq. de célula única para analisar a distribuição dos genes no microambiente tumoral do melanoma. Em humanos, a análise foi realizada na plataforma GEPIA, que integra dados de expressão gênica de tumores do TCGA (The Cancer Genome Atlas) e de tecidos normais do GTEx (Genotype-Tissue Expression). Nos resultados murinos, *ICAM1* foi amplamente expresso em células endoteliais tumorais, CAFs (fibroblastos associados ao câncer), células dendríticas, macrófagos e linfócitos T. *VCAM1* apresentou expressão heterogênea entre os tipos celulares, entretanto, assim como *NCAM1* atingiu níveis máximos de expressão nos CAFs. *ICAM2*, *PECAM1* e *MCAM* apresentaram expressão restrita às células endoteliais tumorais. No perfil humano, *ICAM1*, *VCAM1* e *MCAM* foram mais expressos em tumores do que em pele normal, ao passo que *ICAM2* e *PECAM1* exibiram padrões divergentes entre espécies. A análise segmentada mostrou predominância de *PECAM1* e *MCAM* em células endoteliais tumorais e de *ICAM1* e *VCAM1* nos CAFs, indicando distribuição específica entre tipos celulares do microambiente tumoral. Esses achados apontam ICAM-1, VCAM-1 e MCAM como moléculas de adesão conservadas e potenciais alvos terapêuticos, enquanto as diferenças observadas para ICAM-2 e PECAM-1 sugerem particularidades biológicas que merecem investigação futura. Estudos futuros mais aprofundados, incluindo análises in vitro e in vivo, bem como a avaliação da relação com resposta terapêutica e prognóstico, são necessários para delimitar precisamente o papel dessas moléculas no melanoma.

**Palavras-chave:** Moléculas de adesão, B16F10, Melanoma, Microambiente tumoral, Expressão gênica.



## ABSTRACT

Cutaneous melanoma is a skin cancer known for its high aggressiveness and metastatic potential, processes that are partly mediated by adhesion molecules present in the tumor microenvironment. This study evaluated the expression of six adhesion molecules in public datasets of murine and human melanoma, namely: ICAM-1, ICAM-2, NCAM-1, VCAM-1, PECAM-1, and MCAM. In the murine model (B16F10), a public single-cell RNA-seq database was used to analyze the distribution of these genes in the tumor microenvironment. In humans, the analysis was performed using the GEPIA platform, which integrates gene expression data from tumors in TCGA (The Cancer Genome Atlas) and normal tissues in GTEx (Genotype-Tissue Expression). In murine results, *ICAM1* was widely expressed in malignant cells, cancer-associated fibroblasts (CAFs), dendritic cells, macrophages, and T lymphocytes. *VCAM1* showed heterogeneous expression across cell types and, like *NCAM1*, reached maximum levels in CAFs. *ICAM2*, *PECAM1*, and *MCAM* were restricted to malignant cells. In the human profile, *ICAM1*, *VCAM1*, and *MCAM* were more highly expressed in tumors than in normal skin, whereas *ICAM2* and *PECAM1* showed divergent patterns between species. Segmented analysis revealed predominance of *PECAM1* and *MCAM* in tumor cells and of *ICAM1* and *VCAM1* in CAFs, indicating a specific distribution among tumor microenvironment cell types. These findings suggest that ICAM-1, VCAM-1, and MCAM are conserved adhesion molecules and potential therapeutic targets, while the differences observed for ICAM-2 and PECAM-1 indicate biological particularities that warrant further investigation. Future in-depth studies, including in vitro and in vivo analyses, as well as evaluation of their relationship with therapeutic response and prognosis, are needed to precisely delineate the role of these molecules in melanoma.

**KEYWORDS:** Adhesion molecules, B16F10, Melanoma, Tumor microenvironment, Gene expression.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>ACTB</i>	Gene da $\beta$ -actina
ANOVA	Análise de Variância
CAFs	Fibroblastos associados ao câncer
CD31	Molécula de adesão de célula plaquetária e endotelial 1 (PECAM-1)
CD146	Molécula de adesão de célula de melanoma (MCAM)
FIJI	Plataforma de código aberto para análise de imagens
GEPIA	Gene Expression Profiling Interactive Analysis
GTE <sub>x</sub>	Genotype-Tissue Expression
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
ICAM-2	Molécula de adesão intercelular 2
IgSF	Superfamília de imunoglobulinas
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MACs	Moléculas de adesão celular
MCAM	Molécula de adesão de célula de melanoma
NCAM- 1	Molécula de adesão de célula neural 1
PECAM-1	Molécula de adesão de célula plaquetária e endotelial 1
RNA-Seq	Sequenciamento de RNA
scRNA-seq	Sequenciamento de RNA de célula única
TCGA	The Cancer Genome Atlas
t-SNE	t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding
UV	Radiação ultravioleta
VCAM-1	Molécula de adesão de célula vascular 1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO .....	10
1.1 - O Câncer como Problema de Saúde Pública .....	10
1.2 - Melanoma Cutâneo: Agressividade e Metástase .....	11
1.3 - O Papel das Moléculas de Adesão Celular na Progressão Tumoral .....	12
1.4 - Descrição das Moléculas Estudadas .....	13
1.5 - Justificativa .....	14
2 – OBJETIVOS .....	15
2.1 - Objetivo geral.....	15
2.2 - Objetivos específicos .....	15
3 - METODOLOGIA .....	16
3.1 - Desenvolvimento e aplicação do protocolo para processamento de imagens de melanoma murino .....	16
3.2 - Segmentação celular e normalização como parte do protocolo de análise de expressão gênica .....	18
3.3 - Análise estatística .....	19
3.4 - Análise de Expressão Gênica Humana .....	20
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
5 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	29
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	30

## **1 - INTRODUÇÃO**

### **1.1 - O Câncer como Problema de Saúde Pública**

O câncer representa uma das principais causas de mortalidade em escala global, consolidando-se como um crescente e complexo desafio para a saúde pública. A magnitude deste cenário é evidenciada por dados da Organização Mundial da Saúde, que estimou para o ano de 2022 a ocorrência de aproximadamente 20 milhões de novos casos e 9,7 milhões de óbitos atribuídos à doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2024).

As projeções para as próximas décadas são alarmantes, com uma estimativa de aumento de 77% na incidência global de câncer até 2050, o que pode elevar o total para mais de 35 milhões de novos diagnósticos anuais. Segundo a Organização Mundial da Saúde, esse crescimento é impulsionado principalmente pelo envelhecimento e crescimento populacional, que ampliam de forma significativa o contingente de pessoas em risco, aliado à manutenção de padrões de exposição a fatores de risco como tabagismo, consumo de álcool, obesidade e poluição do ar (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2024).

No contexto brasileiro, a situação epidemiológica acompanha a tendência mundial. O Instituto Nacional de Câncer (INCA) projeta a ocorrência de 704 mil novos casos anuais para o triênio 2023-2025, com uma notável concentração geográfica de 70% dos diagnósticos nas regiões Sul e Sudeste (INCA, 2022). Essa distribuição desigual reforça a importância de políticas públicas direcionadas, capazes de reduzir disparidades regionais no acesso à prevenção, diagnóstico precoce e tratamento.

Adicionalmente, o câncer impõe uma elevada carga socioeconômica. Estima-se que, globalmente, no período de 2020 a 2050 o custo econômico total de 29 tipos de câncer irá alcançar US\$ 25,2 trilhões, considerando custos diretos e indiretos, como perda de produtividade por afastamento do trabalho, incapacidade permanente ou morte prematura (CHEN et al., 2023). Esse impacto financeiro, somado ao peso humano e social da doença, evidencia a urgência de investimentos contínuos em pesquisa, inovação terapêutica e políticas de saúde pública voltadas para a redução da incidência e mortalidade.

## 1.2 - Melanoma Cutâneo: Agressividade e Metástase

Dentre as diversas neoplasias, o melanoma cutâneo se destaca por sua alta agressividade. Originado da transformação maligna dos melanócitos, este tipo de câncer de pele é a principal causa de morte associada a tumores cutâneos (SERS; RIETHMÜLLER; JOHNSON, 1994). A sua letalidade está diretamente ligada ao elevado potencial metastático, um processo multifásico no qual as células tumorais adquirem a capacidade de se desprender do tumor primário, invadir tecidos adjacentes, acessar a circulação sanguínea ou linfática, sobreviver na circulação, sair dos vasos (extravasamento) e colonizar órgãos distantes (D'ARCY; KIEL, 2021; PANG et al., 2022). A incidência da doença é crescente, com uma projeção de 8.980 novos casos por ano no Brasil para o triênio 2023-2025 (INCA, 2022) e cerca de 57 mil mortes registradas globalmente em 2022 (WORLD HEALTH ORGANIZATION et al., 2024).

A patogênese do melanoma é complexa e envolve a interação entre fatores genéticos e ambientais, sendo a exposição à radiação ultravioleta (UV) o principal fator de risco exógeno. A radiação UV induz danos ao DNA, como a formação de dímeros de pirimidina, que, se não reparados corretamente, podem levar a mutações em genes-chave que regulam o ciclo celular e vias de sinalização de proliferação, impulsionando a transformação maligna (KIM; KIM, 2024).

Embora avanços recentes com terapias-alvo e imunoterapias tenham melhorado o prognóstico de pacientes com doença avançada (WOLCHOK et al., 2022), a resistência aos tratamentos e a progressão tumoral permanecem como desafios significativos. A escolha terapêutica leva em consideração fatores como estágio da doença, localização do tumor, perfil genético e condição clínica do paciente; contudo, mesmo com essas abordagens, a eficácia pode ser comprometida pelo desenvolvimento de resistência, reforçando a importância de compreender os mecanismos que permitem a disseminação do melanoma e de identificar novos alvos moleculares e estratégias combinatórias capazes de melhorar os resultados clínicos (DOMINGUES et al., 2018).

### 1.3 - O Papel das Moléculas de Adesão Celular na Progressão Tumoral

A manutenção da arquitetura e da homeostase tecidual é dependente de interações celulares mediadas pelas moléculas de adesão celular (MACs). Essas proteínas transmembranares são responsáveis por orquestrar a coesão entre as células e a sua ancoragem à matriz extracelular, sendo participantes ativas em processos biológicos fundamentais como a diferenciação celular, a migração durante a embriogênese e a resposta imune (HARJUNPÄÄ et al., 2019; MURRAY; FRAMPTON; NELSON, 1999). As MACs estão agrupadas em famílias como as integrinas, as cadherinas, os membros da superfamília de imunoglobulinas (IgSF) e as seletinas. A ação coordenada dessas moléculas garante a estabilidade e a comunicação celular (HARJUNPÄÄ et al., 2019).

Em condições fisiológicas, a expressão e a atividade dessas moléculas são rigorosamente controladas. As cadherinas, por exemplo, formam junções aderentes estáveis em tecidos epiteliais, sendo cruciais para a manutenção da barreira tecidual (UHLEN et al., 2015). As integrinas ancoram as células à matriz extracelular e funcionam como transdutores de sinais bidirecionais, informando a célula sobre o ambiente externo e modulando sua resposta. As seletinas e membros da IgSF medeiam interações transitórias, importantes para o tráfego de leucócitos durante a inflamação (SERS; RIETHMÜLLER; JOHNSON, 1994).

No contexto do câncer, e particularmente no melanoma, esse sistema de adesão é profundamente desregulado. Um evento central na progressão tumoral é o fenômeno de "troca de adesão" (*adhesion switching*). Neste processo, ocorre uma repressão de MACs que promovem adesão estável (como a E-caderina) e um aumento na expressão de moléculas que favorecem interações dinâmicas e motilidade (como a N-caderina) (D'ARCY; KIEL, 2021). Essa reprogramação molecular permite que as células tumorais superem as restrições do tecido de origem, adquirindo um fenótipo invasivo e migratório. Portanto, a desregulação das MACs não é uma consequência, mas sim um mecanismo motor da metástase (SHAIN; BASTIAN, 2016; JANISZEWSKA et al., 2020).

#### 1.4 - Descrição das Moléculas Estudadas

Com base na premissa de que a desregulação das MACs é um evento central na patogênese do melanoma (D'ARCY; KIEL, 2021; HARJUNPÄÄ et al., 2019), foi selecionado um painel de seis moléculas para este estudo: ICAM-1, ICAM-2, NCAM-1, VCAM, PECAM (CD31), MCAM (CD146).

As moléculas MCAM (CD146) e NCAM-1 estão diretamente ligadas à aquisição de um fenótipo móvel e invasivo. A MCAM é um biomarcador de progressão do melanoma, e sua alta expressão está associada a um prognóstico desfavorável, promovendo a motilidade celular através da sinalização intracelular (PANG et al., 2022). A NCAM-1, por sua vez, confere plasticidade às células tumorais, permitindo sua adaptação a diferentes microambientes e facilitando a migração ao longo de estruturas como nervos e vasos (LIU et al., 2011).

A interação com o sistema vascular, etapa crítica para a metástase, é mediada por moléculas como VCAM-1 e PECAM-1 (CD31) (HARJUNPÄÄ et al., 2019). A VCAM-1, expressa em células endoteliais ativadas por citocinas, funciona como um receptor para integrinas expressas em células de melanoma circulantes, facilitando sua adesão firme ao endotélio e o subsequente extravasamento (HARJUNPÄÄ et al., 2019). O papel da PECAM-1 é complexo, estando envolvido no mimetismo vasculogênico, um processo no qual as células de melanoma formam canais condutores de plasma que mimetizam vasos sanguíneos, garantindo suprimento de nutrientes ao tumor (DUNLEAVEY et al., 2014), embora também possa inibir o crescimento tumoral em outros contextos (LUTZKY et al., 2006).

A família ICAM (ICAM-1, -2,) possui papéis duais no microambiente tumoral (HARJUNPÄÄ et al., 2019). A ICAM-1 é importante para a resposta imune mediada por células T, funcionando como um ligante para a integrina LFA-1 em linfócitos. Contudo, as células de melanoma podem utilizar sua superexpressão para promover adesão a células endoteliais e facilitar a disseminação (HAMAÏ et al., 2008).

## 1.5 - Justificativa

Diante do impacto global e nacional do câncer, considerando a elevada mortalidade e os custos sociais e econômicos associados à doença (CHEN et al., 2023), torna-se essencial aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos que promovem a progressão tumoral. O melanoma se destaca por sua agressividade e elevado potencial metastático, processos intimamente ligados à desregulação das moléculas de adesão celular (MACs) e à interação das células tumorais com o microambiente (D'ARCY; KIEL, 2021; SHAIN; BASTIAN, 2016).

Apesar de algumas MACs possuírem funções conhecidas, ainda há necessidade de compreender de forma integrada seus padrões de expressão no melanoma e como esses padrões podem estar associados à progressão da doença. O presente estudo utiliza dados públicos de melanoma murino para investigar essas moléculas em diferentes compartimentos celulares, complementando a análise com informações de melanoma humano. Essa abordagem permite identificar semelhanças e diferenças entre espécies.

Assim, o estudo se justifica como uma oportunidade de gerar informações relevantes sobre a expressão de moléculas de adesão celular, elucidando potenciais padrões moleculares relacionados à progressão tumoral e à interação com o microambiente. Os achados podem fornecer subsídios importantes para futuras estratégias terapêuticas e aprofundar o entendimento do comportamento do melanoma em níveis molecular e celular.



## **2 – OBJETIVOS**

### **2.1 - Objetivo geral**

Investigar a expressão de moléculas de adesão celular em dados públicos de melanoma, visando compreender seu padrão de distribuição no microambiente tumoral.

### **2.2 - Objetivos específicos**

- Reunir dados públicos relevantes sobre melanoma para a análise das moléculas de adesão celular.
- Desenvolver e padronizar um protocolo metodológico para converter representações t-SNE em medidas quantitativas de expressão gênica.
- Aplicar o protocolo desenvolvido para analisar a expressão das moléculas ICAM, NCAM, VCAM, MCAM e CD31 em dados públicos de melanoma.
- Comparar os níveis de expressão dessas moléculas entre tecidos tumorais e tecidos normais.

### **3 - METODOLOGIA**

#### **3.1 - Desenvolvimento e aplicação do protocolo para processamento de imagens de melanoma murino**

Neste estudo, foram analisadas seis moléculas de adesão celular: ICAM-1, ICAM-2, NCAM-1, VCAM, PECAM (CD31) e MCAM (CD146). As imagens utilizadas foram obtidas a partir de dados públicos disponibilizados no Atlas do Melanoma Murino, desenvolvido pelo Teichmann Lab, com base em análises de RNA-seq de célula única (scRNA-seq) da linhagem murina B16F10, conforme descrito por Davidson et al. (2020). O banco disponibiliza mapas de expressão gênica organizados por tipo celular e marcadores específicos, representados em escalas visuais sobre o modelo tumoral, a partir de dados processados por t-SNE (t-Distributed Stochastic Neighbor Embedding).

Para cada molécula, foram selecionadas oito imagens, totalizando 48 imagens no conjunto geral. As imagens foram padronizadas quanto à área de interesse, sendo recortadas de forma uniforme com tamanho fixo de 740 × 820 pixels, de modo a assegurar comparabilidade espacial entre todas as amostras.

O pré-processamento foi realizado no software FIJI (SCHINDELIN et al., 2012), utilizando um macro automatizado, e incluiu as seguintes etapas: (i) Recorte da região de interesse. (ii) Inversão das cores: As imagens originais apresentavam o fundo predominantemente branco e as regiões que indicavam maior intensidade de expressão do gene em tons de vermelho. Com a inversão, o fundo branco original foi transformado em preto, enquanto as áreas de expressão de interesse passaram a ser representadas em branco. Esta alteração permitiu a medição subsequente da área positiva para a expressão do gene. (iii) Conversão para escala de cinza de 8 bits, necessária para aplicação de métodos automatizados de segmentação binária.

```

thresholdsMin = newArray(55, 60, 65, 70);
thresholdMax = 230;

numImages = nImages();

run("Clear Results");

for (i = 0; i < numImages; i++) {
    selectImage(i + 1);

    thresholdIndex = floor(i / 2);
    thrMin = thresholdsMin[thresholdIndex];

    setThreshold(thrMin, thresholdMax);
    run("Convert to Mask");
    run("Select All");
    run("Measure");

    run("Undo");
}

```

**Figura 1.** Macro automatizado utilizado no FIJI para pré-processamento das imagens.  
**Fonte:** Autoria própria.

As imagens foram submetidas à binarização por meio de limiar (*threshold*) com o objetivo de isolar as regiões que apresentavam expressão significativa do gene. Para isso, foram testados quatro valores mínimos de intensidade (55, 60, 65 e 70), mantendo-se fixo o valor máximo em 230. A escolha desses limiares foi baseada em avaliações visuais realizadas nas imagens de t-SNE do gene  $\beta$ -actina, por se tratar de um gene constitutivo e amplamente distribuído. Essa análise visual permitiu identificar em quais pontos o limiar mínimo eliminava partes relevantes da expressão ou, ao contrário, resultava em uma marcação excessiva não específica. Assim, foi possível definir uma faixa intermediária que representasse melhor a expressão do gene.

Por ser um gene de expressão estável, a  $\beta$ -actina foi utilizada como referência para essa etapa de padronização. Posteriormente, os limiares determinados foram aplicados no software FIJI às imagens dos genes de moléculas de adesão previamente descritos por Davidson et al. (2020).

Cada limiar mínimo foi aplicado em duplicata a todas as imagens. A escolha por múltiplos *thresholds* teve como objetivo controlar possíveis flutuações na qualidade do sinal e minimizar inconsistências geradas por imagens com intensidades

diferentes. Esse processo permitiu uma avaliação mais assertiva da expressão gênica, assegurando maior confiabilidade aos valores obtidos.

Após a binarização, as imagens foram convertidas em máscaras binárias. Nelas, os pixels com intensidade dentro do intervalo definido pelo *threshold* mínimo e máximo foram marcados em preto, enquanto os pixels abaixo do limiar mínimo ficaram em branco, representando a região de interesse. A quantificação foi realizada com a ferramenta "Measure" do FIJI, que aplicou os *thresholds* e mediu a porcentagem que os pixels brancos ocupam em relação à área total (%Area). Todo este processo foi automatizado por um macro.

Essa etapa teve como objetivo quantificar os dados públicos de RNA-seq. de célula única a partir das imagens de t-SNE, transformando informações visuais em valores mensuráveis.

```
inputDir = getDirectory("Choose the input folder");
outputDir = inputDir + "Processed/";
File.makeDirectory(outputDir);
list = getFileList(inputDir);
for (i = 0; i < list.length; i++) {
    if (endsWith(list[i], ".tif") || endsWith(list[i], ".jpg") || endsWith(list[i], ".png") || endsWith(list[i], ".bmp")) {
        open(inputDir + list[i]);
        makeRectangle(219, 45, 740, 820);
        run("Crop");
        run("Invert");
        run("8-bit");
        saveAs("Tiff", outputDir + list[i]);
        close();
    }
}
```

**Figura 2.** Macro automatizado para binarização e quantificação das regiões de interesse nas imagens, aplicando diferentes limiares de intensidade e medindo a porcentagem da área positiva (%Area).

**Fonte:** Autoria própria.

### 3.2 - Segmentação celular e normalização como parte do protocolo de análise de expressão gênica

Com o objetivo de mensurar separadamente a expressão gênica em diferentes tipos celulares, foi realizada a segmentação manual das imagens, de modo a restringir a análise a tipos celulares específicos. Este processo envolveu a identificação visual e subsequente remoção das regiões celulares não pertinentes em cada imagem, utilizando o software Microsoft Paint. A segmentação foi focada em manter apenas as áreas correspondentes aos fibroblastos associados ao câncer (CAFs) ou às células

tumorais endoteliais (Endo Tumor), garantindo que a análise de expressão fosse precisamente direcionada aos tipos celulares de interesse pré-definidos.

As imagens segmentadas foram submetidas ao mesmo fluxo de pré-processamento e análise descrito anteriormente, garantindo a comparabilidade entre os dados totais e os recortes por tipo celular. A partir dessas análises, foram gerados três conjuntos de dados: (1) expressão relativa total (todas as células presentes no microambiente tumoral), (2) expressão relativa nos fibroblastos associados ao câncer (CAFs) e (3) expressão relativa nas células endoteliais tumorais.

Para controle da variabilidade entre imagens e padronização dos resultados, foi utilizada a  $\beta$ -actina (ACTB) como controle interno. A escolha da ACTB foi fundamentada por sua expressão constitutiva, se tratando de um gene presente e ativo de forma constante em quase todos os tipos celulares e com funções essenciais para a sobrevivência da célula, sendo um gene de referência consistente para normalização.

Os valores de expressão de cada molécula (em %Area) foram divididos pela média dos valores de ACTB em cada grupo (total, CAFs e Endo Tumor), gerando a expressão relativa normalizada. Essa abordagem permitiu reduzir interferências técnicas e estabelecer uma base comparativa proporcional entre os diferentes marcadores.

### **3.3 - Análise estatística**

Os valores obtidos de expressão relativa foram organizados em planilhas no Microsoft Excel e analisados estatisticamente no software GraphPad Prism v.10 (GraphPad Software, CA, EUA). Os dados foram analisados quanto a normalidade pelos testes de D'Agostino e Pearson e Kolmogorov-Smirnov. Dados paramétricos foram analisados por meio do teste Brown-Forsythe ANOVA, seguindo de pós teste de Dunnett (ZAR, 1999). Valores de  $p > 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes.

### **3.4 - Análise de Expressão Gênica Humana**

Além da análise murina, foi conduzida uma avaliação da expressão gênica em melanoma humano, com dados públicos da plataforma GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis). Essa ferramenta integra dois bancos de dados: o TCGA (The Cancer Genome Atlas), que é um programa de caracterização de câncer focado na análise molecular de tumores humanos, e o GTEx (Genotype-Tissue Expression), que coleta e analisa tecidos humanos para compreender como a expressão gênica varia entre pessoas e tecidos (TANG et al., 2017). Esses bancos permitem a comparação entre a expressão gênica em tecidos tumorais de melanoma e tecidos normais da pele humana.

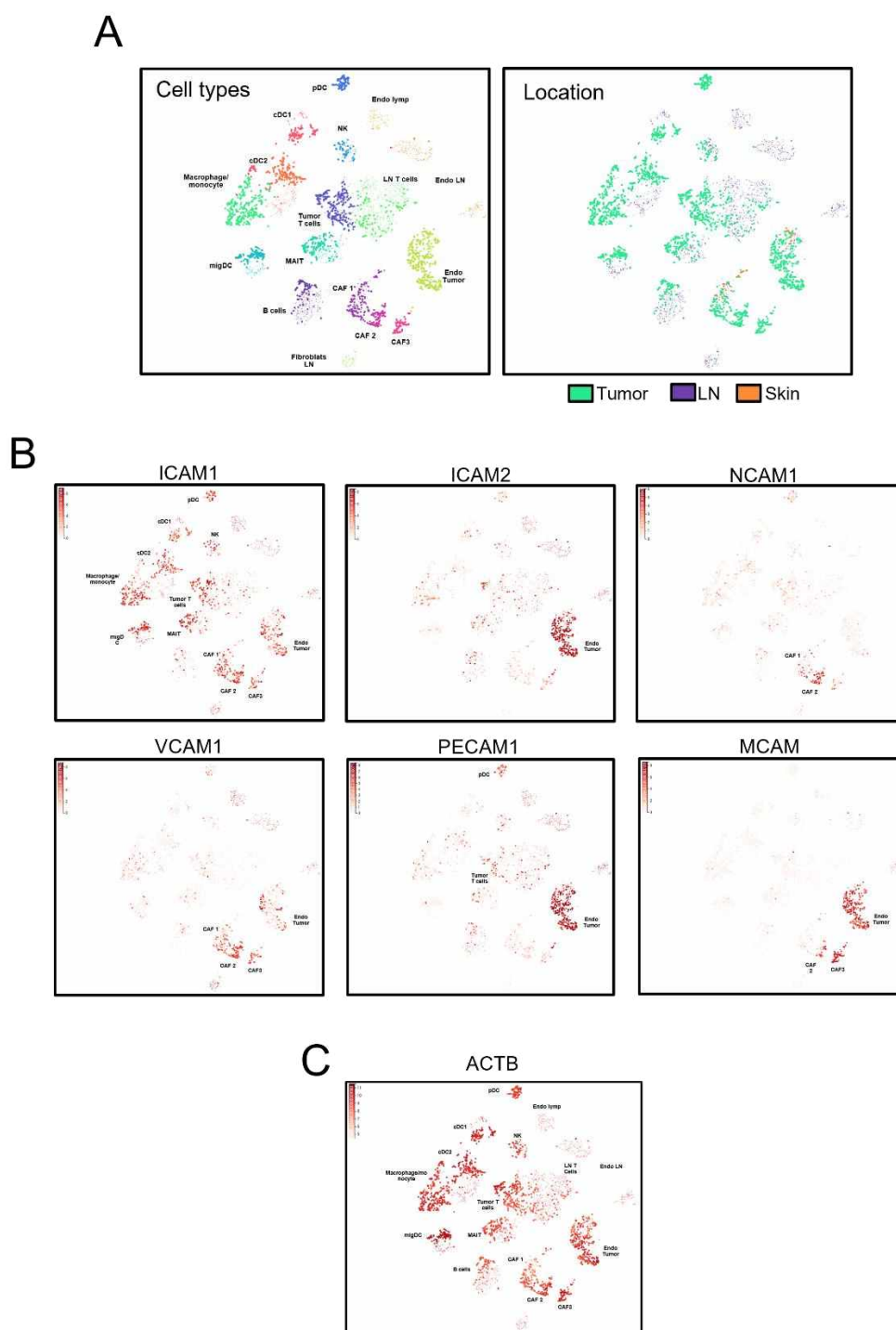
As moléculas analisadas no modelo murino foram analisadas individualmente na plataforma, e os níveis de expressão diferencial foram comparados para verificar possíveis paralelos com os achados observados nas imagens de melanoma murino.

## 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise inicial de dados públicos de RNA-Seq de célula única do melanoma murino B16F10 (DAVIDSON et al., 2020) permitiu identificar a presença de múltiplas moléculas de adesão no microambiente tumoral. Conforme mostrado na Figura 3B, o gene *ICAM1* apresentou expressão ampla em diferentes populações celulares, incluindo células endoteliais tumorais, fibroblastos associados ao câncer (CAFs), células dendríticas, macrófagos e linfócitos T. Em contraste, *ICAM2*, *PECAM1* e *MCAM* exibiram padrão mais restrito, predominando as células endoteliais tumorais. *NCAM1* apresentou expressão elevada principalmente em CAFs, enquanto *VCAM1* foi detectado tanto em CAFs quanto no endo tumor. A *ACTB* ( $\beta$ -actina), utilizada como controle interno (Figura 3C), apresentou expressão constitutiva estável, sendo utilizada para análises comparativas.

A ampla presença de *ICAM1* e *VCAM1* em células endoteliais tumorais, CAFs e linfócitos T está ligada às suas funções na adesão celular, no recrutamento de leucócitos e na regulação da resposta imune (D'ARCY & KIEL, 2021; GUERRA ESPINOSA et al., 2024). Em especial, *ICAM1* participa da interação entre células tumorais e linfócitos T e de mecanismos de evasão imune. Hamaï et al. (2008) mostraram que *ICAM1* influencia a sensibilidade do melanoma à ação de linfócitos T citotóxicos por meio da via PI3K/AKT, que favorece a sobrevivência e o crescimento das células tumorais.

Já Zhang et al. (2022) observaram que a adesão mediada por *ICAM1* é necessária para que vesículas extracelulares liberadas por células de melanoma inibam a atividade dos linfócitos T. Dessa forma, *ICAM1* atua como um ponto de controle importante na relação entre tumor e sistema imune, podendo tanto facilitar a destruição tumoral quanto promover imunossupressão, o que reforça seu potencial como alvo terapêutico.



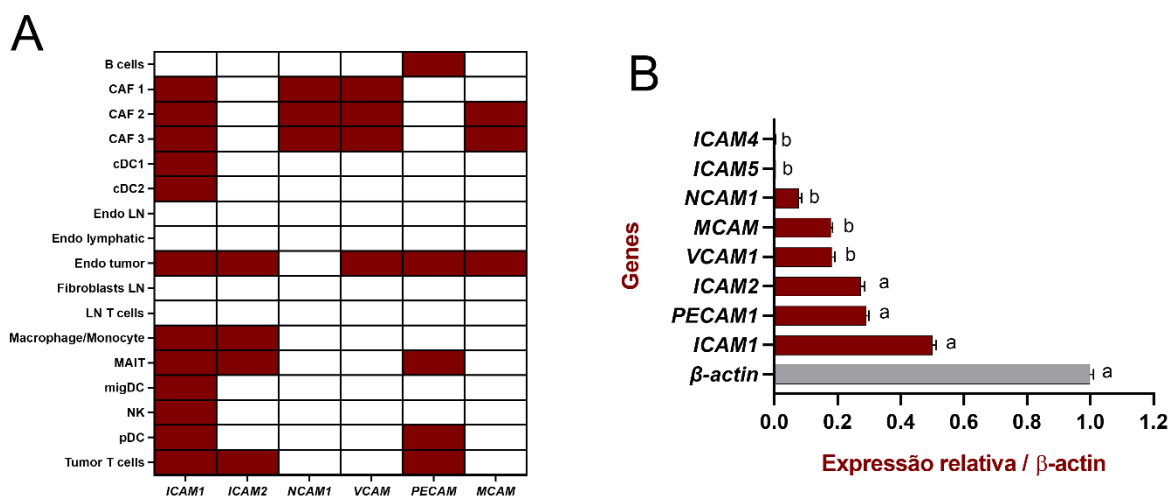
**Figura 3.** Identificação de moléculas de adesão em dados públicos de melanoma por RNA-Seq de célula única, descritos por Davidson e colaboradores. (A) Visualização tSNE de todas as células sequenciadas, com cada célula colorida de acordo com o tipo celular (esquerda) e localização (direita). (B) Expressão dos genes de moléculas de adesão no melanoma B16F10 dentro do RNA-Seq de célula única previamente descrito. (C) Expressão do gene de referência  $\beta$ -actina (ACTB), utilizado como controle interno para normalização e comparabilidade dos dados de expressão gênica.

**Fonte:** Adaptado de Davidson et al. (2020).



Ao avaliar a heterogeneidade no microambiente tumoral (Figura 4A), observou-se que a expressão das moléculas de adesão não é uniforme entre os diferentes tipos celulares. *ICAM1* se destacou por sua ampla distribuição, enquanto os demais genes apresentaram expressão mais restrita, concentrando-se em compartimentos específicos. A quantificação relativa normalizada pela *ACTB* (Figura 4B) revelou que *ICAM1* apresentou expressão elevada, com valores próximos à metade da *ACTB*, seguido por *PECAM1*, *ICAM2*, *VCAM1*, *MCAM* e *NCAM1*, em ordem decrescente.

A predominância de *ICAM1* reforça seu papel central na organização do microambiente tumoral (HARJUNPÄÄ et al., 2019). A expressão elevada de *PECAM1* pode estar relacionada ao mimetismo vasculogênico, processo no qual células tumorais formam canais vasculares independentes do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (DUNLEAVEY et al., 2014). Esse mecanismo é reconhecido como potencial via de escape estratégias terapêuticas que inibem a angiogênese tumoral. *ICAM2*, embora menos estudada que *ICAM1*, está envolvida na adesão e migração de leucócitos, desempenhando um papel na regulação do tráfego celular no microambiente tumoral (HARJUNPÄÄ et al., 2019). Considerando o papel geral das ICAMs na modulação da interação entre células tumorais e células do sistema imune, é possível que *ICAM2* esteja associada de forma indireta a progressão tumoral.



**Figura 4.** Identificação de moléculas de adesão em diferentes populações celulares no melanoma murino (B16F10) usando RNA-Seq de célula única público descrito por Davidson e colaboradores. (A) Análise de concordância das moléculas de adesão em diferentes tipos celulares no microambiente do melanoma B16F10 (esquerda). (B) Expressão relativa dos genes de moléculas de adesão no melanoma B16F10. Os genes de moléculas de adesão foram analisados em comparação ao gene da beta-actina.\*Genes com letras diferentes ao lado da barra (a - e) apresentam diferença significativa estatisticamente entre si; os que compartilham a mesma letra não diferem.

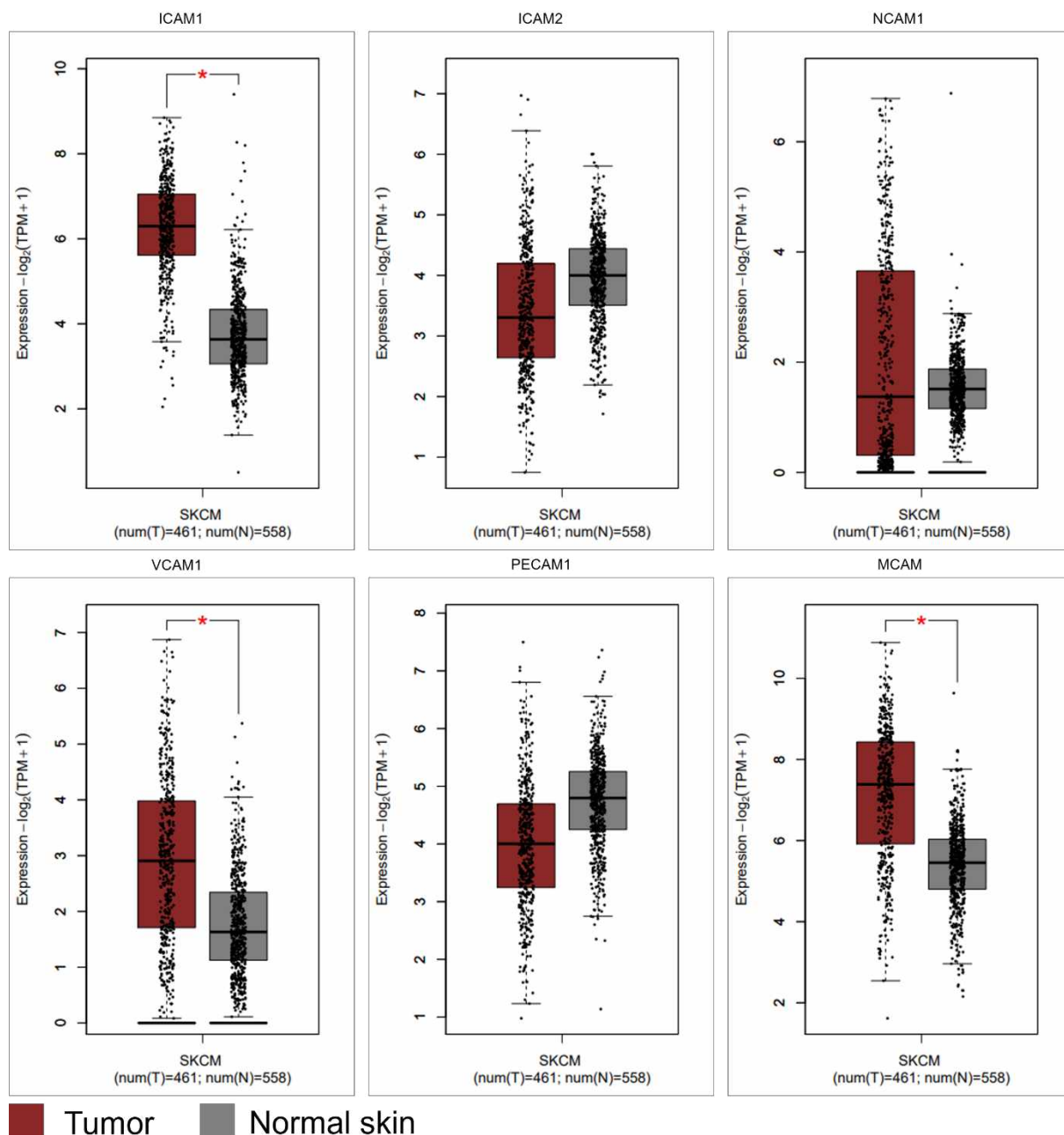
**Fonte:** Autoria própria.

A análise da expressão relativa no conjunto total das células analisadas no microambiente tumoral (Figura 4B) permitiu integrar os achados do modelo murino com dados humanos obtidos por bulk RNA-seq (GEPIA). Enquanto os dados de t-SNE do atlas de melanoma murino (Figuras 3A, 6A e 7A) evidenciaram a heterogeneidade em nível de célula única, a expressão relativa refletiu a média global, sem distinção por compartimento celular, aproximando-se do perfil obtido por bulk RNA-seq.

A comparação entre amostras de melanoma humano e pele normal (Figura 5) evidenciou que *ICAM1*, *VCAM1* e *MCAM* estão significativamente aumentados em amostras tumorais, corroborando os achados no modelo murino. Em contrapartida, *ICAM2* e *PECAM1* apresentaram comportamentos divergentes entre espécies, sugerindo particularidades biológicas que podem representar alvos diferenciais de interesse.

Esses resultados reforçam a relevância de *ICAM1*, *VCAM1* e *MCAM* tanto no modelo murino quanto humano (GUERRA-ESPINOSA et al., 2024), uma vez que o aumento consistente observado confirma que esses marcadores estão associados ao fenótipo tumoral em diferentes contextos. Por outro lado, as divergências para *ICAM2* e *PECAM1* indicam que certos mecanismos de adesão podem ser espécie-específicos ou modulados por fatores contextuais.

Shi et al. (2023) demonstraram que no microambiente tumoral diferentes estados celulares, como células tumorais proliferativas, em transição epitélio-mesênquima e células imunes ativadas ou exaustas, apresentam perfis distintos de expressão de moléculas de adesão. Essa heterogeneidade ajuda a explicar as discrepâncias observadas entre modelos murinos e dados clínicos humanos e reforça a necessidade de integrar análises experimentais e clínicas para a aquisição de informações mais completas sobre a dinâmica celular e molecular do tumor.



**Figura 5.** Análise comparativa da expressão de moléculas de adesão em melanoma humano e pele normal usando GEPIA. Foram comparados dados de amostras tumorais (TCGA) e tecidos normais (GTEx) para identificar diferenças na expressão gênica.

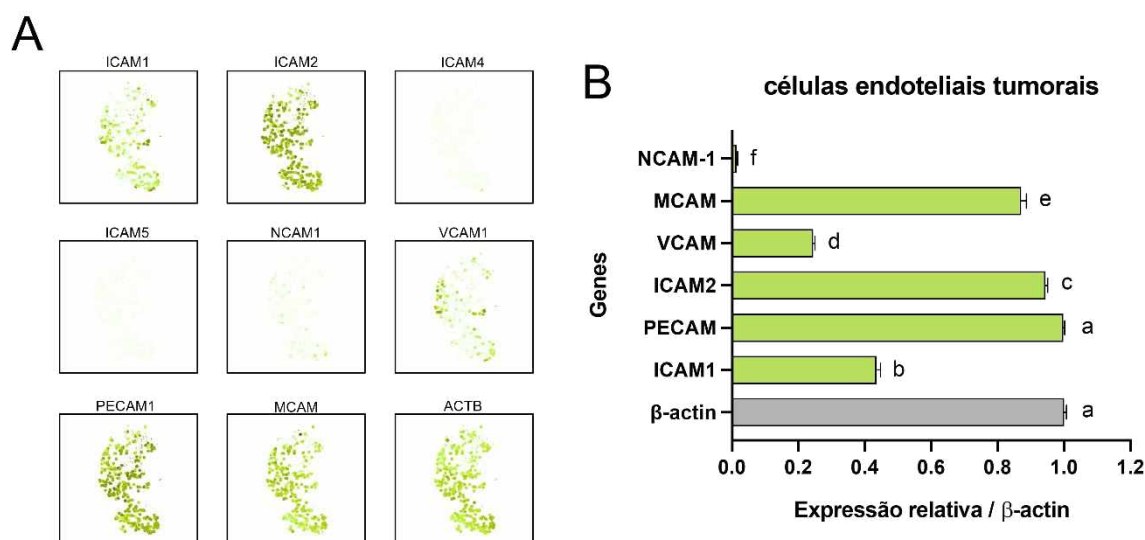
**Fonte:** Adaptado de Tang et al. (2017).

Para aprofundar a análise no modelo murino, as imagens foram segmentadas para isolar tipos celulares específicos e avaliar a expressão gênica de forma direcionada. Nas células tumorais (Figura 6B), *PECAM1* apresentou-se como gene de maior expressão relativa, seguido de *MCAM* e *ICAM2*, com níveis de expressão próximos ao da *ACTB*, indicando alta expressão nas células endoteliais tumorais.

*ICAM1* apresentou expressão ligeiramente inferior, mas ainda elevada, enquanto *VCAM1* mostrou intensidade moderada.

A elevada expressão de *PECAM1* nas células endoteliais tumorais reforça sua relação com o mimetismo vasculogênico (DUNLEAVEY et al., 2014), processo que pode permitir a formação de canais vasculares independentes do VEGF, mantendo o suprimento de nutrientes e oxigênio ao tumor, com isso reduzindo a eficácia de terapias antiangiogênicas. A expressão de *MCAM* pode estar associada à promoção da angiogênese, ao aumento da invasividade e à progressão metastática (SERS et al., 1994; PANG et al., 2022).

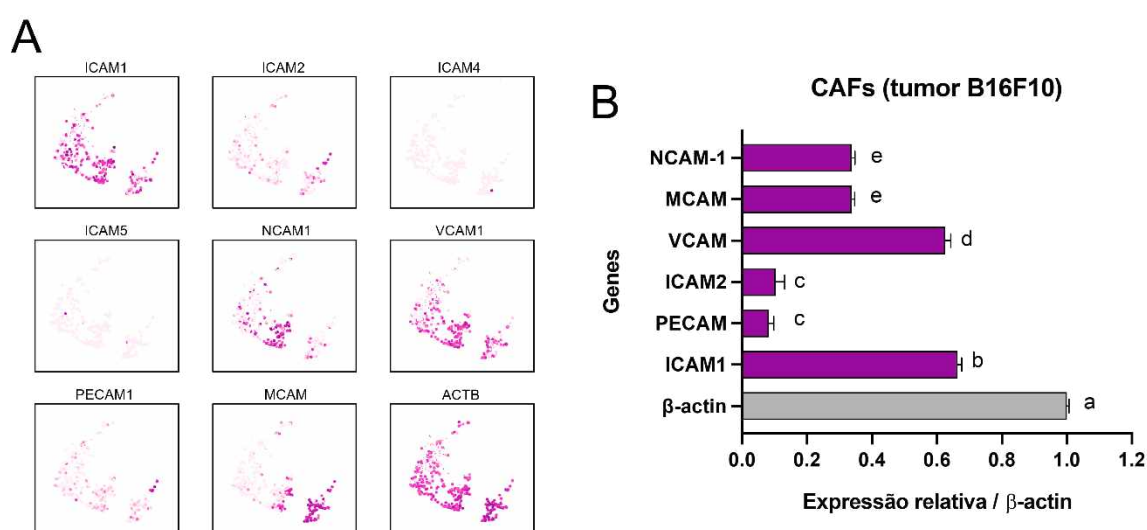
Além disso, Pang et al. (2022) demonstraram que *MCAM* interage com Galectina-3, modulando a adesão e a migração celular, facilitando a disseminação metastática e representa um possível alvo para estratégias anti-metástase. Como visto anteriormente *ICAM2* pode ter um papel na regulação da interação entre células tumorais e leucócitos, influenciando a dinâmica imune local e potencialmente modulando a resposta do microambiente tumoral (HARJUNPÄÄ et al., 2019).



**FIGURA 6.** Expressão de moléculas de adesão restrita ao compartimento de células tumorais endoteliais no melanoma murino B16F10. (A) Expressão dos genes de moléculas de adesão exclusivamente nas células do segmento endotelial tumoral (Endo tumor/B16F10 tumor) dentro do RNA-Seq de célula única previamente descrito. (B) Expressão relativa das moléculas de adesão no segmento, normalizada em relação ao gene de referência β-actina (ACTB). \*Genes com letras diferentes ao lado da barra (a - f) apresentam diferença significativa estatisticamente entre si; os que compartilham a mesma letra não diferem.

**Fonte:** (A) Adaptado de Davidson et al. (2020), (B) Autoria própria.

Nos fibroblastos associados ao câncer (Figura 7B), *ICAM1* e *VCAM1* apresentaram os maiores níveis de expressão relativa, com valores que indicam alta expressão desses genes nesse compartimento celular. Esses dois marcadores se destacaram de forma clara em relação aos demais, compondo o grupo de maior presença transcricional entre as moléculas avaliadas nos CAFs. Em contraste, *NCAM1* e *MCAM* exibiram expressão visivelmente mais baixa, situando-se em um patamar intermediário, enquanto *ICAM2* e *PECAM1* apresentaram níveis reduzidos.



**FIGURA 7.** Expressão de moléculas de adesão restrita ao compartimento de fibroblastos associados ao câncer (CAFs) no melanoma murino B16F10. (A) Expressão dos genes de moléculas de adesão exclusivamente nas células do cluster de CAFs dentro do RNA-Seq. de célula única previamente descrito. (B) Expressão relativa das moléculas de adesão nos CAFs, normalizada em relação ao gene de referência  $\beta$ -actina (ACTB). \*Genes com letras diferentes ao lado da barra (a - e) apresentam diferença significativa estatisticamente entre si; os que compartilham a mesma letra não diferem.

**Fonte:** (A) Adaptado de Davidson et al. (2020), (B) Autoria própria.

A elevada expressão de *ICAM1* e *VCAM1* nos fibroblastos associados ao câncer indica que essas células podem estar ativamente envolvidas na remodelação da matriz extracelular e no recrutamento de células inflamatórias. Mazurkiewicz et al. (2022) demonstraram que células de melanoma com alto potencial invasivo induzem fibroblastos a um estado ativado, com aumento de *ICAM1*, secreção de citocinas pró-inflamatórias e fatores angiogênicos, favorecendo um microambiente tumoral permissivo.

De forma complementar, Asif et al. (2021) descrevem que esses fibroblastos modulam a matriz, promovem alterações que facilitam a invasão e a disseminação tumoral e liberam mediadores que contribuem para resistência a tratamentos. Wang et al., (2025) reforçam essa visão ao mostrar que perfis de expressão gênica associados a fibroblastos ativados no melanoma se correlacionam com pior prognóstico e ambientes imunossupressores.

Em síntese, os resultados revelaram que ICAM-1, VCAM-1 e MCAM se destacaram como moléculas de maior expressão no microambiente tumoral, tanto no modelo murino quanto em dados humanos, enquanto ICAM-2 e PECAM-1 apresentaram padrões mais restritos e divergentes entre espécies. A análise segmentada mostrou que PECAM-1, ICAM-2 e MCAM predominaram nas células tumorais endoteliais, ao passo que ICAM-1 e VCAM-1 foram mais expressivas nos fibroblastos associados ao câncer. Esses achados evidenciam uma distribuição heterogênea das moléculas de adesão, e permitiram delinear um panorama de sua participação no melanoma.

Além disso, vale ressaltar que todos os dados de expressão relativa apresentados neste estudo foram obtidos por meio do protocolo desenvolvido para quantificação de expressão gênica a partir de imagens de t-SNE. Esse fluxo, que incluiu pré-processamento, definição de limiares com base na  $\beta$ -actina, binarização, criação de máscaras e segmentação celular, se mostrou eficiente para transformar representações visuais complexas em medidas quantitativas.

A aplicação do protocolo permitiu analisar de forma detalhada a expressão das moléculas de adesão em diferentes tipos celulares, mostrando padrões heterogêneos no microambiente tumoral e permitindo comparações consistentes entre dados murinos e humanos. Os resultados demonstram que o protocolo funciona como uma ferramenta sólida e consistente, capaz de ampliar a interpretação biológica dos achados e de ser aplicado de forma alternativa para quantificação de dados de RNA-seq de célula única.

## 5 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo indicam que as moléculas de adesão ICAM1, VCAM1 e MCAM apresentaram expressão aumentada tanto no modelo murino quanto em amostras humanas de melanoma, evidenciando sua presença consistente no microambiente tumoral. Já PECAM1 e ICAM2 mostraram padrões divergentes entre espécies, o que pode refletir diferenças biológicas ou contextuais. A análise segmentada revelou que PECAM1, ICAM2 e MCAM se destacam nas células do endo tumor, enquanto ICAM1 e VCAM1 apresentam maior expressão nos fibroblastos associados ao câncer.

Esses achados demonstram que essas moléculas estão distribuídas de forma específica entre diferentes tipos celulares do microambiente tumoral, o que pode ter implicações para a compreensão da biologia do melanoma. No entanto, para esclarecer seu papel funcional e seu potencial como alvos terapêuticos, são necessários estudos complementares, incluindo análises funcionais *in vitro* e *in vivo*, bem como investigações sobre sua relação com resposta a tratamentos e prognóstico clínico.

Além disso, o protocolo desenvolvido permitiu quantificar a expressão das moléculas de adesão a partir das imagens de t-SNE, transformando dados visuais em valores numéricos. Ele possibilitou analisar diferentes tipos celulares e comparar resultados entre melanoma murino e humano, mostrando-se uma abordagem prática e alternativa para estudar dados de RNA-seq de célula única.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASIF, Paris Jabeen et al. The role of cancer-associated fibroblasts in cancer invasion and metastasis. **Cancers**, v. 13, n. 18, p. 4720, 2021.

CHEN, Simiao et al. Estimates and projections of the global economic cost of 29 cancers in 204 countries and territories from 2020 to 2050. **JAMA oncology**, v. 9, n. 4, p. 465-472, 2023.

D'ARCY, Cian; KIEL, Christina. Cell adhesion molecules in normal skin and melanoma. **Biomolecules**, v. 11, n. 8, p. 1213, 2021.

DAVIDSON, Sarah et al. Single-cell RNA sequencing reveals a dynamic stromal niche that supports tumor growth. **Cell reports**, v. 31, n. 7, 2020.

DOMINGUES, Beatriz et al. Melanoma treatment in review. **ImmunoTargets and therapy**, p. 35-49, 2018.

DUNLEAVEY, James M. et al. Vascular channels formed by subpopulations of PECAM1+ melanoma cells. **Nature communications**, v. 5, n. 1, p. 5200, 2014.

GUERRA-ESPINOSA, Claudia et al. ICAMs in immunity, intercellular adhesion and communication. **Cells**, v. 13, n. 4, p. 339, 2024.

HAMAÏ, Ahmed et al. ICAM-1 has a critical role in the regulation of metastatic melanoma tumor susceptibility to CTL lysis by interfering with PI3K/AKT pathway. **Cancer research**, v. 68, n. 23, p. 9854-9864, 2008.

HARJUNPÄÄ, Heidi et al. Cell adhesion molecules and their roles and regulation in the immune and tumor microenvironment. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1078, 2019.

**INCA – INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER.** *Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil.* 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>. Acesso em: 15 ago. 2025.

JANISZEWSKA, Michalina; PRIMI, Marina Candido; IZARD, Tina. Cell adhesion in cancer: Beyond the migration of single cells. **Journal of biological chemistry**, v. 295, n. 8, p. 2495-2505, 2020.

KIM, Hyun Jee; KIM, Yeong Ho. Molecular frontiers in melanoma: pathogenesis, diagnosis, and therapeutic advances. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 5, p. 2984, 2024.

LIU, Rui et al. Neural cell adhesion molecule potentiates the growth of murine melanoma via  $\beta$ -catenin signaling by association with fibroblast growth factor receptor and glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 29, p. 26127-26137, 2011.



LUTZKY, Viviana P. et al. Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31) recycles and induces cell growth inhibition on human tumor cell lines. **Journal of cellular biochemistry**, v. 98, n. 5, p. 1334-1350, 2006.

MAZURKIEWICZ, Justyna et al. Melanoma cells with diverse invasive potential differentially induce the activation of normal human fibroblasts. **Cell Communication and Signaling**, v. 20, n. 1, p. 63, 2022.

MURRAY, Paul; FRAMPTON, G.; NELSON, P. N. Cell adhesion molecules: Sticky moments in the clinic. **Bmj**, v. 319, n. 7206, p. 332-334, 1999.

PANG, Yaoyu et al. Galectin-3 is a natural binding ligand of MCAM (CD146, MUC18) in melanoma cells and their interaction promotes melanoma progression. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1451, 2022.

SERS, Christine; RIETHMÜLLER, Gert; JOHNSON, Judith P. MUC18, a melanoma-progression associated molecule, and its potential role in tumor vascularization and hematogenous spread. **Cancer research**, v. 54, n. 21, p. 5689-5694, 1994.

SCHINDELIN, Johannes et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. **Nature methods**, v. 9, n. 7, p. 676-682, 2012.

SHAIN, A. Hunter; BASTIAN, Boris C. From melanocytes to melanomas. **Nature reviews cancer**, v. 16, n. 6, p. 345-358, 2016.

SHI, Aiai et al. Dissecting cellular states of infiltrating microenvironment cells in melanoma by integrating single-cell and bulk transcriptome analysis. **BMC immunology**, v. 24, n. 1, p. 52, 2023.

TANG, Zefang et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. **Nucleic acids research**, v. 45, n. W1, p. W98-W102, 2017.

UHLÉN, Mathias et al. Tissue-based map of the human proteome. **Science**, v. 347, n. 6220, p. 1260419, 2015.

WANG, Jing et al. Combining single-cell and bulk RNA sequencing to identify CAF-related signature for prognostic prediction and treatment response in patients with melanoma. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 29082, 2025.

WOLCHOK, Jedd D. et al. Long-term outcomes with nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab in patients with advanced melanoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 40, n. 2, p. 127-137, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Global cancer burden growing, amidst mounting need for services [em linha]. 1 fev. 2024.

ZHANG, Wei et al. ICAM-1-mediated adhesion is a prerequisite for exosome-induced T cell suppression. **Developmental cell**, v. 57, n. 3, p. 329-343. e7, 2022.

ZAR, Jerrold H. **Biostatistical analysis**. Pearson Education India, 1999.