

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado de Pós-Graduação em Odontologia

Roberta Rayra Martins Chaves

**PERFIL DE EXPRESSÃO DE GENES INFLAMATÓRIOS NO LINFOMA
PLASMABLÁSTICO DE CAVIDADE ORAL**

Belo Horizonte
2025

Roberta Rayra Martins Chaves

PERFIL DE EXPRESSÃO DE GENES INFLAMATÓRIOS NO LINFOMA PLASMABLÁSTICO DE CAVIDADE ORAL

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Odontologia – área de concentração em Patologia Bucal.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Paiva Fonseca

Coorientadora: Profa. Dra. Marina Gonçalves Diniz

Belo Horizonte
2025

Ficha Catalográfica

C512p Chaves, Roberta Rayra Martins.
2025 Perfil de expressão de genes inflamatórios no linfoma
T plasmablástico de cavidade oral / Roberta Rayra Martins
Chaves. -- 2025.

80 f. : il.

Orientador: Felipe Paiva Fonseca.
Coorientadora: Marina Gonçalves Diniz.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de Minas
Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Linfoma plasmablástico. 2. Linfoma difuso de grandes
células B. 3. Mieloma múltiplo. 4. Expressão gênica. 5.
Terapêutica. I. Fonseca, Felipe Paiva. II. Diniz, Marina
Gonçalves. III. Universidade Federal de Minas Gerais.
Faculdade de Odontologia. IV. Título.

BLACK - D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UFMG
COLEGIADO DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
Folha de Aprovação

PERFIL DE EXPRESSÃO DE GENES INFLAMATÓRIOS NO LINFOMA PLASMABLÁSTICO
ROBERTA RAYRA MARTINS CHAVES

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em ODONTOLOGIA, área de concentração PATOLOGIA BUCAL.

Aprovada em 16 de abril de 2025, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Felipe Paiva Fonseca - Orientador
Faculdade de Odontologia da UFMG

Profa. Sílvia Ferreira de Sousa
Faculdade de Odontologia da UFMG

Prof. Ciro Dantas Soares
Laboratório Getúlio Sales

Profa. Carla Isabelly Rodrigues Fernandes
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Guilherme Rossi de Assis Mendonça
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP





Belo Horizonte, 16 de abril de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Carla Isabelly Rodrigues Fernandes, Usuário Externo**, em 16/04/2025, às 12:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Sílvia Ferreira de Sousa, Professora do Magistério Superior**, em 16/04/2025, às 12:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art.

	5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por Ciro Dantas Soares, Usuário Externo , em 16/04/2025, às 12:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por Guilherme Rossi Assis de Mendonça, Usuário Externo , em 16/04/2025, às 12:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	Documento assinado eletronicamente por Felipe Paiva Fonseca, Professor do Magistério Superior , em 16/04/2025, às 20:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 .
	A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0 , informando o código verificador 4081795 e o código CRC F7553609 .

Dedico este trabalho à minha filha, Ana,
que, ainda em meu ventre já me
transformava, como se vida inteira tivesse.

AGRADECIMENTOS

À minha Mãe misericordiosa, Nossa Senhora, meu amparo de força e refúgio nas alegrias e aflições.

Aos meus pais, Carlos e Fátima, por me proporcionarem uma vida dedicada ao estudo e à educação. Vocês são a minha razão de ser.

À minha irmã e melhor amiga, Larissa. Você é a parte mais bonita da minha vida. Te admiro e amo incondicionalmente.

Ao Ricardo, pelo apoio constante em todas as etapas da minha caminhada.

Ao meu orientador, Felipe, pela confiança no meu trabalho e generosidade com que compartilhou os seus conhecimentos.

À minha coorientadora, Marina, por avançar ao meu lado cada etapa desta pesquisa.

Às pesquisadoras que colaboraram com o desenvolvimento deste estudo, especialmente, Cinthia Veronica Bardález López de Cáceres e Fernanda Faria Rocha.

Aos colegas de pós-graduação, pela cumplicidade que suavizou os desafios dessa jornada.

A todos os Docentes do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, cuja excelência da atuação no ensino e na pesquisa é uma constante e inesgotável fonte de inspiração.

Aos colaboradores do Laboratório de Patologia da FAO-UFMG, Dany, Domenico, e Mara, pelo zelo, gentileza e cuidado com que sempre me acolheram.

Aos colaboradores da Secretaria do Colegiado Pós-Graduação, Luciene, Valéria e Victor, pelo sempre generoso apoio e pela agradável convivência ao longo desta trajetória.

Finalmente, agradeço à Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido ao longo dos meus dois primeiros anos de curso.

“Ninguém realmente começa nada novo, Sra. Nemur. Todos se baseiam nos fracassos de outros homens. Não há nada realmente original na ciência. O que cada homem contribui para a soma do conhecimento é o que conta.”

(KEYES, Daniel. *Flores para Algernon*, 1966)

RESUMO

O linfoma plasmablastico (LPB) é um linfoma não-Hodgkin raro, agressivo e de baixa resposta aos regimes quimioterápicos usuais. Embora aberrações genéticas envolvendo as vias de sinalização JAK/STAT, RAS/RAF, NOTCH, IRF4 e MYC estejam implicadas na sua patogênese, os alvos terapêuticos derivados dessas vias permanecem pouco explorados. Ainda, enquanto a maioria dos estudos se concentra em mutações associadas à imortalização tumoral, o papel das citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e mediadores de sinalização intracelular no microambiente tumoral do LPB ainda é pouco conhecido. Portanto, no presente estudo objetivamos avaliar o perfil imunomodulatório do LPB e seu potencial terapêutico, com foco nos mediadores inflamatórios e suas respectivas vias de sinalização. Foram incluídos 32 casos de linfoma, sendo 10 LPBs, 11 linfomas difuso de grandes células B, sem outra especificação (LDGCB-SOE) e 11 neoplasias de plasmócitos (PCN). As informações clínicas foram coletadas retrospectivamente. A positividade do vírus EBV foi avaliada por meio da hibridização *in situ* cromogênica para EBER. A presença de translocações envolvendo os genes *MYC*, *BCL2* e *BCL6* foi avaliada por hibridização *in situ* por fluorescência. Após a extração do RNA total, o painel *TaqMan™ OpenArray™ Human Inflammation Panel*, foi realizado utilizando a plataforma QuantStudio™ 12K Flex para a avaliação do perfil de expressão de 607 genes inflamatórios. Análises estatísticas e bioinformáticas foram empregadas para a avaliação da expressão gênica diferencial, e para o estudo das vias de sinalização celular enriquecidas e das redes interação proteína-proteína formadas. Todos os linfomas ocorreram em cavidade oral e apresentaram o aumento de volume como a principal manifestação clínica. A idade média dos indivíduos afetados por LPB foi menor do que aos dos demais grupos, bem como o seu tempo de evolução. Somente as amostras de LPB (10/10) apresentaram positividade para EBER e HIV (5/10). A tripla positividade para os rearranjos em *MYC*, *BCL2*, e *BCL6* foi observada em dois casos, sendo um de LDGCB-SOE e outro de LPB. O perfil de expressão de genes inflamatórios do PBL foi mais similar ao DLBCL-NOS ($r = 0,86$) do que ao PCN ($r = 0,78$). Os principais genes diferencialmente expressos incluíram STAT4 e STAT5A (membros da via JAK-STAT), SOCS2 (regulador negativo da via JAK-STAT), MAPK14 (componente chave da via MAPK-ERK) e BCL2A1, BCL6, BCL10 e NFkB1 (membros ou reguladores da via de sinalização NF-κB). Curiosamente, o gene *CR2/CD21*, receptor de entrada para o EBV, foi subexpresso no PBL, enquanto os componentes do complemento C3 e *C3AR1* foram superexpressos. As vias enriquecidas foram consistentes com os genes diferencialmente expressos. Os resultados do estudo destacaram moléculas promissoras para o desenvolvimento de terapias alvo-específicas para o LPB.

Palavras-chave: linfoma plasmablastico; linfoma difuso de grandes células b, sem outra especificação; mieloma múltiplo; linfomas de células b; expressão gênica. diagnóstico; prognóstico; tratamento.

ABSTRACT

Inflammatory gene expression profile of plasmablastic lymphoma of the oral cavity

Plasmablastic lymphoma (PBL) is a rare and aggressive subtype of non-Hodgkin lymphoma that shows poor response to conventional chemotherapy regimens. Although genetic aberrations involving the JAK/STAT, RAS/RAF, NOTCH, IRF4, and MYC signalling pathways have been implicated in its pathogenesis, the therapeutic potential of targeting these pathways remains largely unexplored. Moreover, while most studies have focused on mutations related to tumour cell immortalisation, the role of cytokines, chemokines, growth factors, and intracellular signalling mediators in the PBL tumour microenvironment remains poorly characterised. This study aimed to investigate the immunomodulatory profile of PBL and its therapeutic potential, with a focus on inflammatory mediators and their associated signalling pathways. A total of 32 lymphoma cases were included: 10 PBLs, 11 diffuse large B-cell lymphomas not otherwise specified (DLBCL-NOS), and 11 plasma cell neoplasms (PCNs). Clinical data were collected retrospectively. EBV status was determined by chromogenic in situ hybridisation for EBER, and rearrangements involving MYC, BCL2, and BCL6 were assessed using fluorescence in situ hybridisation. Total RNA was extracted from formalin-fixed paraffin-embedded tissues, and the expression of 607 inflammation-related genes was analysed using the TaqMan™ OpenArray™ Human Inflammation Panel on the QuantStudio™ 12K Flex platform. Statistical and bioinformatic analyses were performed to identify differentially expressed genes, enriched signalling pathways, and protein–protein interaction networks. All lymphomas occurred in the oral cavity and presented predominantly as soft tissue swelling. Patients with PBL were younger and had shorter disease duration compared to the other groups. All PBL cases were positive for EBER, and half were HIV-positive. Triple rearrangements involving MYC, BCL2, and BCL6 were identified in one PBL and one DLBCL-NOS case. The inflammatory gene expression profile of PBL was more similar to DLBCL-NOS ($r = 0.86$) than to PCN ($r = 0.78$). Key differentially expressed genes included STAT4 and STAT5A (JAK-STAT pathway members), SOCS2 (a negative regulator of JAK-STAT), MAPK14 (a core component of the MAPK-ERK pathway), and BCL2A1, BCL6, BCL10, and NFKB1 (members or regulators of the NF- κ B pathway). Interestingly, CR2/CD21, the EBV entry receptor, was underexpressed in PBL, while complement components C3 and C3AR1 were overexpressed. Enriched pathway analysis was consistent with these expression patterns. These findings highlight promising molecular candidates and support the potential role of complement inhibition as a novel therapeutic strategy for PBL.

Keywords: plasmablastic lymphoma; diffuse large b-cell lymphomas, not otherwise specified; multiple myeloma; b cell lymphomas; gene expression; diagnosis; prognosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática das placas de reação e disposição dos subarrays.....	26
Figura 2	Gráficos de roda de outliers e de quantificação relativa.....	28
Figura 3	Caracterização morfológica, imunofenotípica e viral das amostras de linfoma plasmablástico (LPB)	35
Figura 4	Gráficos de caixa exibindo a variação dos valores de CRT das amostras do estudo.....	40
Figura 5	Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação de Pearson entre os grupos de estudo.....	40
Figura 6	Gráficos de vulcão. Genes diferencialmente expressos entre os grupos de estudo.....	42
Figura 7	Diagramas de Venn. Conjuntos intersecção entre os genes diferencialmente expressos pelos grupos.....	44
Figura 8	Redes de interação proteína-proteína.....	47

LISTA DE TABELAS

	Características clínicas, laboratoriais e moleculares dos casos	
Tabela 1	incluídos no estudo.....	33
	Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras	
Tabela 2	linfoma plasmablástico (LPB).....	34
	Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras de	
	linfoma difuso de grandes células B, sem outra especificação	
Tabela 3	(LDGCB-SOE).....	36
	Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras de	
Tabela 4	amostras de neoplasias de plasmócitos (PCN).....	37
Tabela 5	Genes diferencialmente expressos entre os grupos de estudo.....	43
	Vias de sinalização enriquecidas e seus respectivos genes de	
Tabela 6	intersecção.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1	Linfócitos B: desenvolvimento, maturação e função	15
2.2	Sobreposições clinicopatológicas entre o LPB, LDGCB-SOE, e PCN.....	17
2.3	Alterações moleculares no LPB, LDGCB-SOE, e PCN.....	18
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo geral	20
3.2	Objetivos específicos	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	Desenho do estudo, amostras e aspectos éticos.....	21
4.2	Análise histopatológica e imuno-histoquímica	21
4.3	Estudo de hibridização <i>in situ</i>	22
4.3.1	Hibridização <i>in situ</i> por cromógeno.....	22
4.3.2	Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência	23
4.4	Extração de RNA	23
4.5	Ensaio de expressão gênica	24
4.5.1	Preparo das amostras.....	24
4.5.2	Reação de transcrição reversa.....	25
4.5.3	Perfil de expressão de genes inflamatórios.....	25
4.5.4	Revisão dos dados	26
4.5.5	Análises estatísticas.....	28
4.6	Enriquecimento funcional e análise de redes de interação	29
5	RESULTADOS	31
5.1	Caracterização da amostra	31
5.2	Análise histopatológica e imuno-histoquímica	34
5.3	Análise de rearranjo para os genes <i>MYC</i> , <i>BCL2</i> e <i>BCL6</i>	37
5.4	Ensaio de expressão gênica	38
5.4.1	Revisão dos dados	38
5.4.2	Perfil de expressão de genes inflamatórios.....	38

5.4.3	Genes diferencialmente expressos.....	41
5.4.4	Enriquecimento funcional e análise em rede de interação	45
6	DISCUSSÃO	48
7	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS	56
	APÊNDICE A – Quantificação e Análise de Integridade	64
	APÊNDICE B – Parâmetros de qualidade para amplificação dos alvos	65
	APÊNDICE C – Gráfico de mapa de calor	66
	APÊNDICE D – Gráfico de vulcão – Referência: LDGCB-SOE	67
	APÊNDICE E – Gráfico de vulcão – Referência: PCN.....	68
	ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)	69
	ANEXO B – Produção acadêmica no período do curso.....	71

1 INTRODUÇÃO

Os linfomas constituem o segundo grupo mais frequente de malignidades que afetam a região de cabeça e pescoço. A cavidade oral é o principal sítio anatômico da região de cabeça e pescoço afetado por esses tumores, sendo o linfoma plasmoblástico (LPB) um dos mais representativos nessa localização (Cabeçadas *et al.*, 2019). Em um estudo multicêntrico nacional, o LPB foi o terceiro mais frequente (n = 30, 11%), precedido pelo linfoma difuso de grandes células B, sem outra especificação (LDGCB-SOE) (n = 99, 37%) e pelo grupo de neoplasias de células do plasma (PCN), constituído por variantes do plasmocitoma/mieloma múltiplo (n = 39, 15%). Além de serem os três tipos de linfoma que mais frequentemente afetam a cavidade oral, o LPB, o LDGCB-SOE, e as PCN compartilham diversas características histopatológicas, o que torna o diagnóstico diferencial desses tumores desafiador.

Embora raro, o LPB apresenta comportamento clínico extremamente agressivo, com média de seis a trinta e dois meses de sobrevivência após o diagnóstico. Por este motivo, é fundamental que a doença seja seguramente reconhecida, o que pode aumentar a expectativa de sobrevida do paciente afetado ao direcioná-lo, de modo racional, ao tratamento adequado (Frontzek *et al.*, 2021). As abordagens de biologia molecular têm sido a cada dia mais utilizadas para fins diagnósticos. No contexto das neoplasias linfoides, a RT-qPCR tem mostrado grande valor diagnóstico, e para o monitoramento dos regimes quimioterápicos no tratamento das leucemias mieloides (Grimwade *et al.*, 1998; Schumacher *et al.*, 2015). Contudo, ainda que o LPB tenha sido descrito pela primeira vez no ano de 1997 por Delecluse (1997), sua caracterização molecular é escassa (Fonseca *et al.*, 2021) e nenhum marcador diagnóstico específico para o tumor foi caracterizado até a presente data.

Pesquisas recentes revelaram que alterações genéticas envolvendo as vias de sinalização JAK/STAT, RAS/RAF, NOTCH, IRF4 e MYC podem conduzir a patogênese molecular do lpb (Chapman *et al.*, 2021; Garcia-Reyero *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2020a, 2020b; Miao *et al.*, 2020; Montes-Moreno *et al.*, 2017; Ramburan; Kriel; Govender, 2022; Ramis-Zaldivar *et al.*, 2021; Shi *et al.*, 2022; Witte *et al.*, 2022). no entanto, o potencial diagnóstico e terapêutico desses alvos não foi elucidado. Ainda, a maioria dos pesquisadores se dedicam à busca por alterações genéticas subjacentes à imortalização das células tumorais. Contudo, além das alterações

decorrentes das anormalidades genéticas, o crescimento e a proliferação neoplásica também podem ser modulados diretamente por moléculas extranucleares.

A mucosa oral é um sítio imunológico único que equilibra a tolerância e a ativação imunológica em resposta a antígenos alimentares, microbiota e patógenos (Novak *et al.*, 2008; C *et al.*, 2021; Ptasiwicz *et al.*, 2022). O equilíbrio imunológico oral depende de mecanismos de interação entre as células epiteliais e imunorregulatórias como as células apresentadoras de antígenos e as células T reguladoras, que modulam as respostas imunes inatas e adaptativas para evitar a inflamação patológica e, ao mesmo tempo, preservar a adequada resposta imune (Pelaez-Prestel *et al.*, 2021). Esse ambiente finamente ajustado pode influenciar a biologia dos tumores desenvolvidos na cavidade oral, embora as evidências diretas que ligam a imunidade da mucosa oral às neoplasias linfoides sejam limitadas. Nesse contexto, pouco se sabe sobre o perfil imunomodulatório do LPB.

Observações iniciais sugeriram que o LPB de cavidade oral poderia representar uma entidade biologicamente distinta de sua contraparte extraoral (Hansra *et al.*, 2010). No entanto, estudos comparativos subsequentes não confirmaram diferenças clínicas, morfológicas ou prognósticas significativas entre as LPBs orais e extraorais (Meer; Perner; Willem, 2022; Qing *et al.*, 2011). Considerando as características imunorreguladoras distintas da mucosa oral, no presente estudo objetivamos avaliar a expressão de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, e mediadores de sinalização intracelular na linfomagenese do LPB. Para isso, realizamos um painel de 607 genes inflamatórios em 10 casos de LPB, 11 casos de LDGCB-SOE, e 11 casos de PCN. Esses tumores foram escolhidos para comparação com o LPB pois representam um espectro de neoplasias originadas de células B em estágios sequenciais do seu processo diferenciação. Além disso, os genes diferencialmente expressos entre esses três grupos poderão ser avaliados como alvos diagnóstico e terapêuticos em estudos futuros.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Linfócitos B: desenvolvimento, maturação e função

Os linfócitos são células brancas (leucócitos), derivadas das células tronco hematopoiéticas da medula óssea, que podem ser encontradas no sangue periférico no tecido linfoide. Essas células são subdivididas em linfócitos T (*Thymus-derived*), B (*Bursal or Bone marrow-derived*), e NK (*Natural Killers*). Os linfócitos B constituem uma população celular que expressa clonalmente diversos receptores de imunoglobulina (Ig) que reconhecem epítomos antigênicos específicos, sendo, portanto, componentes fundamentais da resposta imune adaptativa (Cooper; Alder, 2006; Lebien; Thomas; Tedder, 2008).

O desenvolvimento dos linfócitos B compreende uma série de estágios contínuos que se iniciam no tecido linfoide primário com uma subsequente maturação funcional no tecido linfoide secundário, e tendo como ponto final a produção de anticorpos pelos plasmócitos terminalmente diferenciados (Lebien; Thomas; Tedder, 2008). Cada estágio de maturação das células B é caracterizado pela expressão de moléculas de superfície específicas. O estágio inicial é caracterizado pelo rearranjo ordenado dos genes das cadeias pesadas e leves das imunoglobulinas (Ig). Esse processo ocorre principalmente em tecidos linfóides primários, como a medula óssea em adultos e o fígado fetal em humanos (Chung; Silverman; Monroe, 2003). As células precursoras (pro-B) expressam inicialmente marcadores como CD34, CD10 e CD19. Após rearranjos bem-sucedidos dos genes da cadeia pesada, ocorre a expressão inicial do receptor pré-B (pré-BCR), fundamental para garantir a seleção positiva das células que expressam cadeias pesadas funcionais. Este receptor pré-B é formado por uma cadeia pesada associada a cadeias leves substitutas, denominadas $\lambda 5$ e VpreB. Neste estágio pré-B, as células passam a expressar CD79a e CD79b (Ig α e Ig β) (Brack *et al.*, 1978; Lebien, 2000).

Posteriormente, as células B imaturas passam a expressar IgM na superfície e deixam a medula óssea ou o fígado fetal, migrando através da circulação sanguínea para os tecidos linfóides secundários, como baço e linfonodos (Chung; Silverman; Monroe, 2003). Nessas regiões, as células B naive amadurecem completamente, adquirindo expressão adicional de IgD na superfície, além de marcadores como CD20, CD21, CD22 e CD40. Ao encontrarem antígenos específicos

apresentados por células dendríticas foliculares, os linfócitos B naive são ativados e iniciam a reação do centro germinativo nos folículos dos tecidos linfóides secundários (Lebien; Thomas; Tedder, 2008). Dentro do centro germinativo, ocorre expansão clonal das células B, hipermutação somática nos genes das imunoglobulinas e recombinação de troca de classe, levando à seleção das células B que expressam anticorpos com maior afinidade (Jacob *et al.*, 1991; Kelsoe, 1996).

Ao final da reação do centro germinativo, as células B podem seguir dois caminhos principais de diferenciação terminal: células B de memória, que continuam expressando marcadores como CD19, CD20 e CD27, permanecendo prontas para respostas rápidas em contatos futuros com o mesmo antígeno; ou plasmócitos, que perdem expressão dos marcadores típicos das células B maduras (como CD19 e CD20) e adquirem a expressão de CD38 e CD138, especializando-se na produção e secreção de grandes quantidades de anticorpos específicos (Lebien, 2000; Lebien; Thomas; Tedder, 2008).

Perturbações no desenvolvimento ou nas funções dos linfócitos B podem resultar em imunodeficiências, doenças autoimunes e neoplasias hematológicas, incluindo leucemias e linfomas (Lebien; Thomas; Tedder, 2008). Cada estágio normal de desenvolvimento dos linfócitos B pode ter uma contraparte maligna, decorrente da expansão clonal anormal de um subclone específico. Linfomas difusos de grandes células B frequentemente apresentam expressão desregulada do repressor transcricional Bcl-6 do centro germinativo e diversos outros genes reguladores da diferenciação das células B ativadas, como *MYD88*, *CD79B*, *PIM1*, e *PRDM1*, refletindo as perturbações que ocorrem em cada estágio da maturação normal das células B (Pasqualucci; Dalla-Favera, 2015; Song; Matthias, 2018; Ye *et al.*, 1993).

Por outro lado, no mieloma múltiplo ocorre a proliferação monoclonal de células B maduras, denominadas como plasmócitos, que expressam marcadores como o CD138 e o MUM1/IRF4. A doença se desenvolve em decorrência de eventos genéticos como trissomias e translocações cromossômicas recorrentes envolvendo os genes das imunoglobulinas que resultam na superexpressão de oncogenes como *CCND1*, *CCND2*, *CCND3*, *NSD2 (MMSET, WHSC1)*, *MAF*, *MAFA*, e *MAFB* (Bergsagel *et al.*, 2005; Kumar; Rajkumar, 2018). Já o LPB se desenvolve a partir de células B em diferenciação terminal, porém ainda não maturadas como plasmócitos, conhecidas como plasmoblastos. Dessa forma, o tumor apresenta imunofenótipo plasmoblástico, caracterizado pela perda da expressão de marcadores de células B imaturas, como

CD10 e Bcl-6, e perda de marcadores de células B maduras, como PAX5, CD20, e PRDM1/BLIMP1 (Montes-Moreno *et al.*, 2010a, 2017b). Contudo, a expressão de marcadores associados à diferenciação plasmocitária como CD138, CD38, VS38c, Blimp1, XBP1 também é observada (Delecluse *et al.*, 1997; LI *et al.*, 2024a). Ainda, cerca de 40% dos PBLs são positivos para CD79a, marcador usualmente expresso pelos linfomas difusos de grandes células B. O desenvolvimento do LPB a partir desse estágio intermediário de maturação das células B explica as sobreposições diagnósticas observadas entre o tumor com o LDGCB-SOE e o PCN.

2.2 Sobreposições clinicopatológicas entre o LPB, LDGCB-SOE, e PCN

Do ponto de vista clínico, os indivíduos imunocomprometidos, especialmente portadores de HIV-AIDS, representam a população mais afetada pelo LPB (Fonseca *et al.*, 2021; Rodrigues-Fernandes *et al.*, 2018). No entanto, o quadro de imunossupressão também é considerado fator de risco para o desenvolvimento do LDGCB-SOE (Kimani *et al.*, 2020), que análogo ao LPB, pode ser coinfecado pelo vírus EBV, sendo reclassificado em LGDGCB-EBV+ (Chapman *et al.*, 2021). Portanto, ainda que o LPB ocorra majoritariamente em indivíduos HIV-AIDS positivos, e apresente coinfeção por EBV na maior parte dos casos, esses achados não podem ser considerados patognomônicos para o diagnóstico do tumor. Não obstante, a doença também pode ocorrer em indivíduos imunocompetentes (Vourexakis; Dulguerov, 2014), assim como os infiltrados extraósseos de MM e o plasmocitoma extraósseo primário, que são as neoplasias de células com diferenciação plasmocitária mais semelhantes ao LPB (Chen *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2020a; Vega *et al.*, 2005).

Microscopicamente, o tumor é caracterizado por uma proliferação difusa de imunoblastos e plasmablastos que pode ser indistinguível do LDGCB-SOE, sobretudo, da sua variante imunoblástica. A sobreposição de achados histopatológicos entre os dois tumores é ainda mais acentuada nos casos de LPB de cavidade oral. Por outras vezes, as células do LPB podem apresentar acentuada diferenciação plasmocítica mostrando-se morfologicamente idênticas à população celular das variantes plasmablástica e anaplásica do PCN (Karube; Satou; Kato, 2024). Desse modo, a análise histopatológica é insuficiente para a definição do diagnóstico de LPB.

Atualmente, a imuno-histoquímica é o principal, e mais acessível, método auxiliar para o diagnóstico de rotina dos linfomas. O imunofenótipo do LPB é representativo de diferenciação plasmocitária, com positividade para as citocinas VS38C, MUM1, CD38, CD138, e CD79a, e negatividade ou positividade fraca para marcadores de células B maduras como, CD20 e PAX5 (Fonseca *et al.*, 2021). Já o LDGCB-SOE, é positivo para marcadores de células B e negativo para citocinas de plasmócitos (Sukswai *et al.*, 2020). A marcação positiva para cadeias pesadas e leves de kappa e lambda nas variantes do PCN é o achado mais importante para distingui-las do LPB (Karube; Satou; Kato, 2024; Rimsza *et al.*, 2014). Além disso, o índice de proliferação celular, mensurado pela expressão do marcador Ki67, é significativamente reduzido em lesões de PCN em comparação ao LPB. Contudo, ainda que os painéis de imuno-histoquímica tenham grande valor para a rotina de diagnóstico, uma miscelânea de eventos genéticos pode ocorrer nesses tumores, resultando em um perfil de expressão de citocinas alterado. Assim, a definição de biomarcadores específicos é um dos principais objetivos das pesquisas realizadas com essas doenças.

2.3 Alterações moleculares no LPB, LDGCB-SOE, e PCN

Atualmente, a translocação 8q-14q+ envolvendo os genes MYC e IGH é considerada a impressão digital do tumor, presente em cerca de 50% dos casos (Chapman-Fredricks *et al.*, 2012; Hassan *et al.*, 2007; Huang; Zhang; Gao, 2015; Karube; Satou; Kato, 2024; Miao *et al.*, 2020; Montes-Moreno *et al.*, 2017a; Pather *et al.*, 2021; Ramburan; Kriel; Govender, 2022; Taddesse-Heath *et al.*, 2010; Yordanova *et al.*, 2019). Contudo, a mudança não é exclusiva do LPB, sendo detectada em 8-14% dos LDGCB – SOE e em aproximadamente metade dos casos de PCN, o que impede que a alteração cromossômica seja considerada como alvo molecular diagnóstico para o LPB (Chisholm *et al.*, 2015; Sewastianik *et al.*, 2014). Ainda que a translocação IgH-MYC seja um evento em comum, estudos recentes mostraram que o perfil de lesões genéticas do LPB é marcadamente diferente do LDGCB – SOE e do PCN (Bibas, 2024; Chapman *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2020b; Montes-Moreno *et al.*, 2010b).

Os LPBs abrigam mutações envolvendo vários genes das vias de sinalização celular JAK-STAT, MAPK-ERK e NOTCH. Já no LDGCB-SOE, as

mutações em membros da família NF- κ B e em genes reguladores epigenéticos como CREBBP e KMT2D são prevalentes. As mutações em proteínas da via JAK-STAT, particularmente envolvendo o gene STAT3, foram detectadas em aproximadamente 40% dos casos de PBL avaliados por Liu e colaboradores (Liu *et al.*, 2020b). Em contrapartida, são eventos raros no PCN e no LDGCB – SOE (Küppers, 2020; Liu *et al.*, 2020b). Esse conjunto de alterações moleculares em famílias de genes, e em vias de sinalização celular específicas, pervadiu as amostras de LPB estudadas, e por isso, foi considerado definidor da doença (Küppers, 2020).

As mutações *missenses* nos resíduos *hotspot* p.G12, p.G13, e p.Q61 do gene NRAS, além daquelas detectadas nas regiões p.G12, p.G13, e p.A146 do gene KRAS, e p.V600, p.G466, e p.G469 do gene BRAF foram detectadas em 30%-50% dos casos de LPB. As mutações ativadoras da via de sinalização celular JAK-STAT foram encontradas em 35% dos casos de LPB, sobretudo no domínio SH2 de STAT3, afetando os resíduos p.D661 e p.D640, região essencial para dimerização e ativação do gene (Frontzek *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2020c; Ramis-Zaldivar *et al.*, 2021).

A heterogeneidade genética do LPB foi detalhada no elegante estudo de Frontzek e colaboradores (Frontzek *et al.*, 2021). O grupo comparou o perfil de alterações genéticas em subgrupos biologicamente definidos, incluindo status de positividade para HIV e EBV, presença de translocações MYC, estado imunológico e localização primária do tumor. Foi encontrado um padrão de aberrações cromossômicas, incluindo deleções envolvendo os cromossomos 1p e 13q, em 73% dos PBL negativos para EBV, e os cromossomos 4q e 18p, nos tumores desenvolvidos em indivíduos imunocompetentes. Ainda, ampliações cromossômicas focais em 1q43, 2q31.3, 11q23.3, e 12p11.22 foram significativamente associadas à presença de translocações em MYC. Os autores também observaram que os pacientes afetados por PBL negativos para EBV abrigavam mais mutações no gene supressor de tumor TP53, e uma menor taxa de sobrevida. Finalmente, a presença de mutações em NRAS também foi relacionada ao prognóstico sombrio (Frontzek *et al.*, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil de expressão de genes inflamatórios em amostras LPB, LDGCB-SOE, e PCN.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar os achados clínicos e imunofenotípicos de uma série de casos de LPB, LDGCB-SOE, e PCN.
- Avaliar a presença de translocações envolvendo os genes *MYC*, *BCL2* e *BCL6*.
- Identificar genes diferencialmente expressos entre as amostras de LPB, LDGCB-SOE, e PCN.
- Avaliar as vias de sinalização celular enriquecidas e as redes de interação formadas de acordo com o perfil de expressão gênica diferencial.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo, amostras e aspectos éticos

Estudo multicêntrico, observacional transversal realizado a partir da seleção retrospectiva de amostras diagnosticadas como LPB, LDGCB-SOE, e PCN, pelos Serviços de Patologia Oral e Maxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade de Minas Gerais, de Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP), e do Serviço Integrado de Patologia e Cirurgia Bucomaxilofacial do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB), da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Pará (UFPA). As 32 amostras de tecido fixado em formol e incluído em parafina (FFPE) sendo, 10 amostras de LPB, 11 amostras de LDGCB-SOE e 11 amostras de PCN foram selecionadas por amostragem por conveniência, dado a natureza rara desses tumores. O grupo de PCN incluiu cinco casos de mieloma de plasmócitos (MP) e seis de plasmocitoma solitário ósseo (PSO), com base na presença de envolvimento ósseo múltiplo ou na ausência de dados disponíveis. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) (CAAE: 44647421.1.0000.5418) (ANEXO A) e foi realizado de acordo com os princípios estabelecidos pela Declaração de Helsinki.

4.2 Análise histopatológica e imuno-histoquímica

Para confecção das lâminas de análise histopatológica foram obtidos dois cortes de 5 μ m de cada bloco. Os cortes foram levados ao banho-maria em uma temperatura de 40°C para remoção da parafina e de possíveis dobras no tecido. Posteriormente, foram coletados por meio de uma lâmina adesivada. As lâminas foram levadas à estufa aquecida a 60°C para remoção do excesso da parafina e adesão do corte à lâmina. Por fim, os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina (H&E). A análise histopatológica foi conduzida por um patologista experiente (F.P.F) para confirmação dos diagnósticos de interesse.

As reações imuno-histoquímica foram realizadas em secções de 3 μ m dos tecidos FFPE, que foram desparafinados com xileno e reidratados numa série de

etanol. A recuperação antigênica foi efetuada através do aquecimento em panela de pressão com Trilogy™ (diluição 1:20; Cell Marque, Rocklin, CA, EUA) durante 30 minutos. A atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 10% num banho duplo durante 15 minutos. Após lavagem com um tampão Tris-HCl (pH 6,0), as secções de tecido foram submetidas a um bloqueio de avidina/biotina para evitar a ligação não específica do anticorpo primário em dois banhos de 10 minutos cada. Após três banhos com tampão Tris-HCl (pH 6,0), as lâminas foram incubadas durante 1 hora a temperatura ambiente com os seguintes anticorpos primários: CD20, CD10, CD3, CD138, VS38c, CD79a, CD56, MUM1, EMA, Bcl2, Bcl6, c-myc, e Ki-67. O sistema de detecção imunoenzimática de antígeno estreptavidina-biotina foi efetuado através de dois banhos sequenciais com o anticorpo secundário antipolivalente de cabra biotinilado (SPRING Bioscience, Pleasanton, CA, EUA) e estreptavidina peroxidase plus (SPRING Bioscience, Pleasanton, CA, EUA) durante 15 minutos cada. As lâminas foram subsequentemente expostas a tetracloreto de diaminobenzidina (DAB, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) durante no máximo de 3 minutos. Por fim, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Meyer durante 5 minutos. Foram utilizadas secções de controle positivo interno para cada anticorpo, enquanto o controle negativo foi obtido omitindo o anticorpo primário específico.

A imunomarcção foi avaliada descritivamente quanto à localização e positividade. A positividade do marcador foi definida por valores de corte recomendados pela classificação da OMS: $\geq 50\%$ de coloração citoplasmática para Bcl2 e $\geq 40\%$ de coloração nuclear para c-myc. O índice Ki67 foi calculado em 1.000 células positivas, contadas em cinco *hotspots* de alta potência. A subclassificação de LDGCB,SOE foi realizada de acordo com os algoritmos de Hans e Muris, com base na coloração de CD10 (citoplasmática), Bcl6 (nuclear), Bcl2 (nuclear) e MUM1 (nuclear), cada uma com um limite de positividade de 30%.

4.3 Estudo de hibridização *in situ*

4.3.1 Hibridização *in situ* por cromógeno

A presença do EBV foi investigada por hibridação *in situ* por cromógeno (CISH). Uma sonda de ácido nucleico peptídico marcada com fluoresceína (PNA)

complementar a 2 RNAs codificados pelo vírus (EBER) (Y5200, Dako, Glostrup, Dinamarca) foi hibridizada a 55°C durante 90 minutos. Sequencialmente, a marcação foi efetuada utilizando o kit de detecção PNA ISH (K5201, Dako). Um único caso de linfoma extranodal de células NK/T, tipo nasal, foi utilizado como controlo positivo. A hematoxilina de Carazzi foi utilizada para a contra-coloração subsequente. Os casos foram considerados positivos para o EBV se fosse detectada coloração azul escura nos núcleos das células neoplásicas.

4.3.2 Hibridização *in situ* por fluorescência

A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) foi executada em seções de 4 µm tecido utilizando sondas de separação de duas cores para os rearranjos MYC/8q24, BCL6/3q27, e BCL2/18q21 (Abbott Laboratories, Des Plaines, IL). As células foram hibridizadas com as sondas MYC, BCL2 e BCL6, e os núcleos foram contra-corados com 4',6-diamidino-2-fenilindol *antifade*. A fluorescência foi detectada utilizando um microscópio de fluorescência Olympus BX41 (Olympus™, Japão) com filtros de excitação para 4',6-diamidino-2-fenilindole (260 nm) e rodamina (570 nm). Para cada caso, foram analisados até 200 núcleos interfásicos utilizando um sistema de análise de imagem ASI (Applied Spectral Imaging™, Israel). As manchas nos núcleos foram classificadas conforme descrito anteriormente (Scott *et al.*, 2018).

4.4 Extração de RNA

O micrótomo manual foi utilizado para a obtenção de 15 a 20 cortes com 5 µm de espessura das amostras de tecido FFPE selecionadas para o estudo. Em seguida, o RNA genômico total (gRNA) foi extraído usando o kit pré-fabricado *ReliaPrep™ FFPE Total RNA Miniprep System* (#Z1001, Promega Biotecnologia do Brasil LTDA, Brasil), seguindo o protocolo do fabricante. Após a desparafinização com o óleo mineral, o tampão de lise e a enzima Proteinase K foram adicionados para a digestão tecidual enzimática em banho seco a 80°C por cerca de três a quatro horas. Em seguida, as amostras foram resfriadas por 1 minuto em gelo e, posteriormente, o tratamento com DNase foi conduzido, a fim de degradar as moléculas de DNA presentes. O isolamento do RNA foi iniciado com a transferência do conteúdo lisado para as colunas de sílica. Então, após a lavagem das colunas em dois banhos

subsequenciais com 500 μL de solução de lavagem, as colunas foram secas em uma centrifugação a 16.000 x g por 3 minutos, e o RNA foi duplamente extraído utilizando 25 μL e 20 μL de H_2O livre de nucleases em cada extração. O RNA extraído foi armazenado a -80°C até o início do preparo das amostras para o ensaio de expressão gênica.

4.5 Ensaio de expressão gênica

4.5.1 Preparo das amostras

A quantificação e a avaliação da pureza do RNA extraído foi medida por meio da análise por espectrofotometria utilizando o espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (Thermo Fisher Scientific, CA, USA). Para análise, foi avaliado 1 μL do RNA extraído considerando como razões de fotometria ótimas o resultado da proporção 260/280 e 230/260 entre 1,8 e 2. As amostras com quantificação em nanogramas maiores do que 1.000 foram diluídas na proporção 3:10.

A integridade do RNA extraído foi avaliada por meio de quantificação fluorométrica no fluorômetro Qubit 4.0 (#Q33238, Thermo Fisher Scientific, CA, USA) utilizando o kit *Qubit RNA IQ Assay* (#Q33221, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, CA, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. Após o preparo da solução de trabalho, 10 μL de cada um dos três padrões de leitura foram diluídos em 190 μL de solução de trabalho, e então, a curva de fluorescência padrão foi feita para a calibração da leitura do equipamento. Subsequentemente, 1 μL das amostras do estudo foi diluído em 199 μL da solução de trabalho. As amostras foram então brevemente vortexadas, centrifugadas, e encubadas em ambiente protegido da luz por um período de 5 minutos. Por último foram mensuradas utilizando o módulo *RNA IQ Assay*. Todas as mensurações foram feitas utilizando os tubos específicos *Qubit™ Assay Tubes* (#Q32856, Thermo Fisher Scientific, CA, USA). Considerando a peculiaridade dos ácidos nucleicos extraídos de tecidos FFPE, foram incluídas no estudo amostras com RNA IQ superior a 5,0. Os resultados de quantificação e integridade do material extraído podem ser consultados no APÊNDICE A.

4.5.2 Reação de transcrição reversa

A reação de transcrição reversa foi realizada empregando o kit *SuperScript® VILO™ cDNA Synthesis* (#11754050, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, CA, USA) para a síntese do DNA complementar (cDNA) necessária para as reações em cadeia de polimerase (PCR) posteriores, seguindo as recomendações do fabricante. A quantidade de RNA inserido foi calculada de modo a alcançarmos a quantidade de 2 µg de RNA total sugerido pelo fabricante do painel de expressão gênica a ser realizado. Desse modo, a quantidade de RNA inserido para a reação de transcrição reversa variou entre 2,7 µL a 14 µL. Após a distribuição e homogeneização das amostras no *mix*, a reação de transcrição reversa foi feita em três períodos de incubação, sendo o primeiro a 25°C por 10 minutos, seguido por 42°C por 60 minutos, e uma incubação final a 85°C durante 5 minutos. Após incubação em gelo por 5 minutos as amostras foram armazenadas a -20°C até a realização do ensaio de expressão gênica.

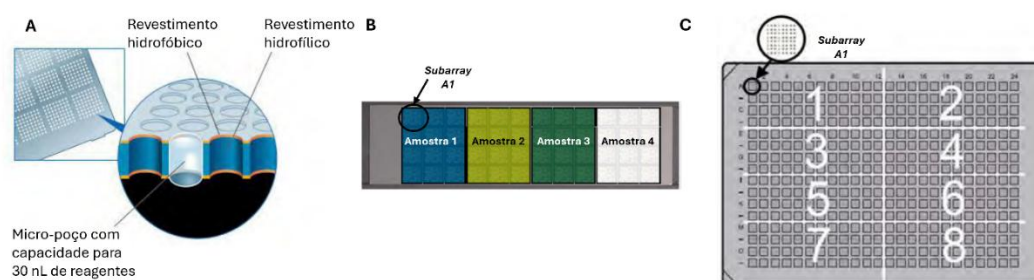
4.5.3 Perfil de expressão de genes inflamatórios

O painel de inflamação humana *Human Inflammation Panel – TaqMan®* (#4475389) constituído por 607 marcadores de vias de resposta inflamatória e 24 controles endógenos foi utilizado no sistema *OpenArray®* da plataforma *QuantStudio 12k* (QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System, ThermoFisher Scientific, CA, USA) para a avaliação do perfil de expressão de genes inflamatórios dos grupos de estudo da presente pesquisa.

Os painéis *OpenArray* são apresentados como placas de reação de densidade média de 63 PCN × 19 PCN. Cada placa possui 3072 micro-poços de passagem de reação, onde os primers para os genes alvos estão inseridos. Os micro-poços são distribuídos em 48 sub-matrizes, cada uma com 64 orifícios de passagem dispostos em grelhas de 8 x 8. Cada micro-poço é revestido com componentes hidrofílicos e hidrofóbicos para que os reagentes da reação de PCR sejam mantidos dentro de seus respectivos poços (Figura 1 A). Cada ensaio completo do painel ocupou 12 *subarrays*. Dessa forma, em cada placa, foram analisadas 4 amostras do estudo (Figura 1 B).

A primeira etapa do experimento de expressão gênica consistiu no preparo e distribuição dos reagentes da reação e das amostras nas placas de 384 poços, de acordo com as recomendações do fabricante. Após a homogeneização de 145,2 µL do *master mix* (2X TaqMan® OpenArray® Real-Time) e 75,5 µL de H₂O, 50,2 µL da mistura foram distribuídos em cada poço da placa de 314 poços. Em seguida, foram adicionados 15,8 µL das amostras de cDNA, em cada *subarray* (Figura 1 C). Posteriormente à selagem, a placa foi centrifugada por 1 minuto a 1.000 rpm e carregada no equipamento AccuFill™ (QuantStudio™ 12K Flex Accufill System, # 4471021, ThermoFisher Scientific, CA, USA) para a pipetagem automática de 33 nL da mistura previamente distribuída na placa de 314 poços em cada um dos 3072 micro-poços da placa de análise contendo os genes alvo. Finalizada a pipetagem automática, as placas de análise foram introduzidas no equipamento QuantStudio12k onde as reações de PCR simultâneas foram realizadas seguindo a termociclagem proposta pelo fabricante.

Figura 1 – Representação esquemática das placas de reação e disposição dos *subarrays*.



Legenda: a) Caracterização dos micro-poços constituintes da placa de reação. b) Disposição das amostras na placa de reação contendo 3072 micro-poços. Cada *subarray* contém 64 micro-poços, onde estão distribuídos os alvos. Para a realização do painel completo em cada amostra são utilizados 12 *subarrays*. c) Distribuição das amostras e reagentes na placa de 384 poços, previamente à pipetagem automática na placa de reação.

FONTE: Adaptado de TaqMan® OpenArray® Pathway Panels. User Guide. Applied Biosystems, 2013.

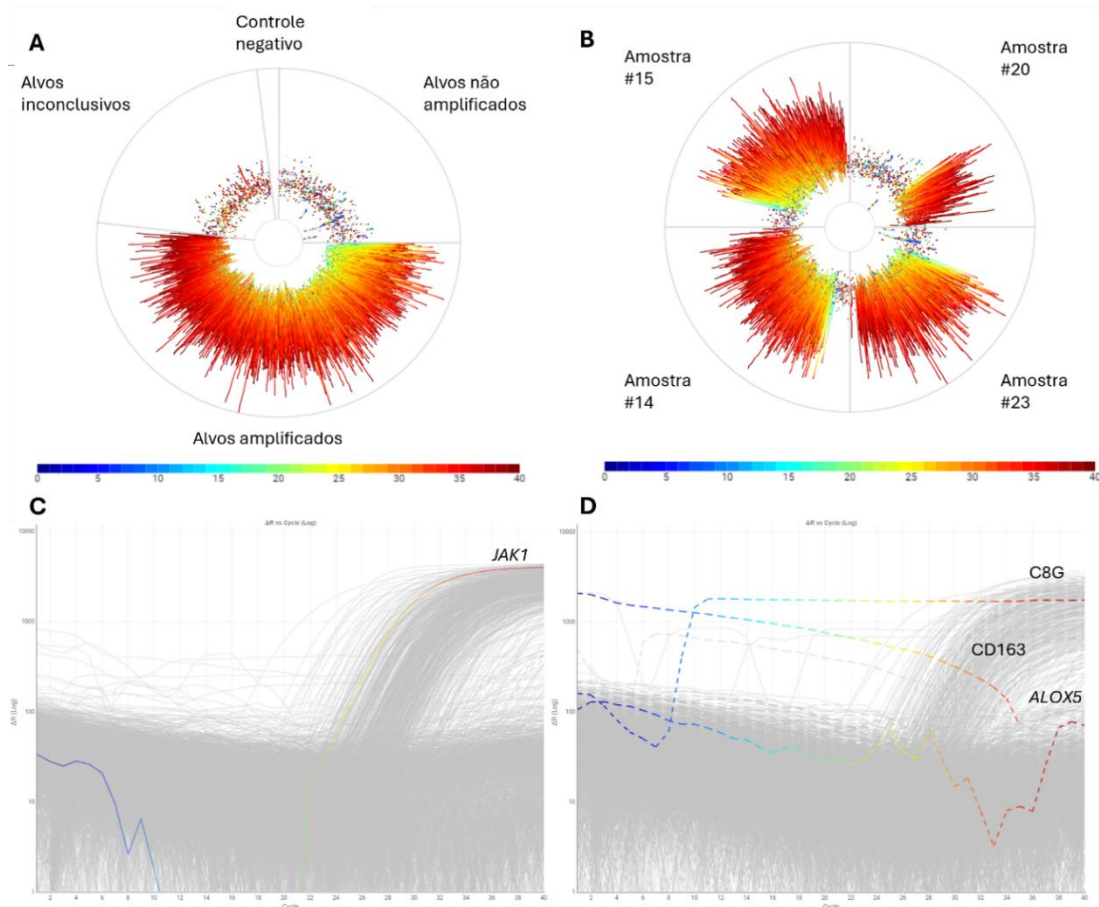
4.5.4 Revisão dos dados

O módulo de quantificação relativa da plataforma *Thermo Connect Platform* (<https://apps.thermofisher.com/apps/spa/beta/#/dashboard>) foi utilizado para a revisão dos dados obtidos e para as análises estatísticas univariadas subsequentes. Após a criação do projeto contendo todas as placas, três biogrupos de análise foram

definidos: (1) DLBCL, NOS, constituído pelas amostras de LDGCB-SOE; (2) PBL, formado por amostras de LPB; e (3) PCM composto por amostras de PCN. Seguindo a formação dos biogrupos, a revisão dos dados brutos foi conduzida a fim de avaliar a qualidade dos dados de amplificação obtidos.

Os parâmetros de qualidade foram definidos conforme descrito no APÊNDICE B. Os limites do *status* de amplificação e o limite de confiança do C_{RT} (*Cycle Relative Threshold*) foram as principais medidas para a determinação dos alvos considerados amplificados. Cada placa de análise foi revisada individualmente para a verificação da porcentagem de alvos amplificados, inconclusivos e não amplificados por meio do gráfico de roda de *outliers* (Figura 2 A). Verificou-se, no mesmo gráfico, o padrão de amplificação de cada amostra (Figura 2 B). A revisão individual de cada alvo do painel também foi performada e, aqueles que apresentaram mais do que três sinais de interferência e curvas de amplificação deformadas, foram omitidos das análises estatísticas subsequentes (Figura 2 C e D). As amostras do estudo que acumularam mais de 1.800 sinais de interferência também foram excluídas da análise.

Figura 2 – Gráficos de roda de outliers e de quantificação relativa.



- Legenda: a) Gráfico de outlier mostrando o estado de amplificação de uma das placas de reação. Os alvos amplificados são caracterizados por picos longos que estão distribuídos na metade inferior do gráfico. As cores dos picos indicam os ciclos da reação (*cycle threshold* - CT) nos quais a amplificação foi iniciada. A coloração azul escuro indica o ciclo 0, enquanto a cor vermelha escuro indica o ciclo 40.
- b) Gráfico de outlier mostrando o estado de amplificação das amostras #15, #20, #14, #23. Os alvos não amplificados ou inconclusivos se dispõem visualmente como pontos.
- c) Gráfico de quantificação relativa mostrando a amplificação adequada do alvo *JAK1*. O CT é exibido no eixo X, enquanto a quantificação relativa, ou ΔC_{RT} em escala logarítmica.
- d) Gráfico de quantificação relativa mostrando a amplificação inadequada dos alvos *C8G*, *CD163*, e *ALOX5*. As linhas pontilhadas indicam que os alvos foram omitidos das análises estatísticas subsequentes, devido à má qualidade da amplificação.

FONTE: Gerado pela autora em *Thermo Fisher Connect Platform*, 2025. <https://www.thermofisher.com/br/en/home/digital-science/thermo-fisher-connect.html?SID=fr-cloud-2>

4.5.5 Análises estatísticas

A normalização global, método de normalização algorítmica dos escores de C_{RT} foi aplicada ao conjunto de dados do estudo. A análise do escore de C_{RT} seguiu o método *singleplex*, no qual os alvos de interesse e os controles endógenos estão distribuídos em poços diferentes. Para a maior parte das análises o PBL foi o biogrupo

de referência e a amostra PBL 14, a amostra de referência. Apenas a análise de expressão diferencial por gráfico de vulcão foi realizada em três conjuntos considerando, em cada um deles, um biogrupo de estudo como referência e as melhores amostras de cada biogrupo como as amostras de referência.

O método de análise de variância, ANOVA, foi utilizado para análise estatística univariada dos três grupos independentes em estudo adotando como limite de significância estatística um p valor menor do que 0,05 ($p < 0,05$). O método de correção pós-teste de Benjamini-Hochberg foi aplicado para o controle da taxa de descobertas falsas (FDR). Para todas as análises, o intervalo de confiança de 95% foi estabelecido. A variação dos valores de C_{RT} de cada amostra foi avaliada por meio dos gráficos de caixa. A análise de correlação de Pearson ($p > 0.7$) foi conduzida para avaliar a correspondência entre os biogrupos. O gráfico de calor foi o método de análise não supervisionado empregado para identificar a formação de possíveis agrupamentos de acordo com método de ligação completa, conforme descrito previamente (D'haeseleer, 2005). Finalmente, a análise por gráfico de vulcão foi feita para a avaliação das diferenças no nível de expressão gênica relativa entre os biogrupos do estudo por meio da relação entre os valores de p e os valores de *fold-change* (FC) de cada alvo.

4.6 Enriquecimento funcional e análise de redes de interação

A ferramenta de definição de perfis funcionais (g:GOST) do software g:Profiler (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost>) foi utilizada a fim de alcançar uma compreensão mais abrangente das funções e mecanismos pelos quais os genes diferencialmente expressos contribuem para a patogênese do LPB, por meio de uma análise de enriquecimento dos conjuntos diferencialmente expressos (Kolberg *et al.*, 2023). Para a análise, foram considerados os resultados de expressão diferencial tendo o PBL como grupo de referência. Os enriquecimentos foram realizados com base nos termos definidos pela base de dados *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (<https://www.genome.jp/kegg/>). A correção de Bonferroni com limite de $p < 0.05$ foi adotada como método de controle do erro por múltiplas testagens.

O módulo *Proteins with Values/Ranks* da versão 12.0 da base de dados STRING (<https://string-db.org/>) foi empregue para avaliar as redes de interação proteína-proteína, a fim de compreender as principais vias de sinalização moduladas

pelos genes diferencialmente expressos entre os grupos de estudo. Foram considerados apenas o conjunto de genes diferencialmente expressos obtidos da análise de expressão diferencial tendo o grupo de LPB como referência. A lista de genes diferencialmente expressos foi convertida utilizando o módulo g:Convert do software gProfiler (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/convert>) para obtenção do registro ENSP de cada gene. O material de entrada para análise STRING foi constituído pela lista das proteínas em conjunto com os seus respectivos valores de *fold change*. O método de agrupamento k-means foi aplicado para obtenção de quatro clusters de interações com o intuito de ampliar a visualização das redes de interação formadas.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

Das 32 amostras incluídas no estudo, 10 foram de LPB, 11 de LDGCB-SOE, e 11 de PCN. Os indivíduos diagnosticados com LPB tinham entre 24 e 81 anos ($\bar{x}46,9\pm19,7$), enquanto a idade dos afetados pelo LDGCB-SOE variou entre 33 e 87 anos ($\bar{x}59,2\pm16,1$), e daqueles com PCN entre 55 e 78 anos de vida ($\bar{x}65,8\pm8$). Embora os indivíduos do sexo masculino tenham sido predominantemente afetados nos três grupos em estudo, a proporção de homens no grupo de LPB foi maior (8/10). O estado de infecção por HIV foi informado apenas para 7/10 dos indivíduos com PBL. Destes, 5 foram positivos e apenas um foi do sexo feminino. Todos os tumores incluídos no presente estudo ocorreram em região de cavidade oral. Para os 23 casos com localizações anatômicas específicas informadas, 10 se desenvolveram em gengiva, dos quais 2 se estenderam para o palato. Todos esses casos pertenciam ao grupo de LPB. A mandíbula foi a segunda localização mais frequente com 7 casos, seguida pela maxila e orofaringe, com 3 casos cada.

A sintomatologia dolorosa foi reportada por 4/10 indivíduos com LPB, e 4/10 com PCN. Essa informação pôde ser recuperada para apenas 2/11 casos de LDGCB-SOE, e ambos afirmaram sentir dor. A presença de ulceração foi um achado clínico frequente para os grupos de LPB (9/10) e LDGCB-SOE (6/8). Por outro lado, apenas 2/10 dos casos de PCN apresentavam-se clinicamente como lesões ulceradas. A principal característica clínica para os três grupos de tumores estudados foi o aumento de volume, presente em 28 dos 30 casos para os quais esse dado foi recuperado. Para os casos informados, o tempo de evolução da doença variou entre 1 e 6 meses para o grupo de LDGCB-SOE ($\bar{x}2,7\pm1,9$), entre 1 e 24 meses para o grupo de PCN ($\bar{x}5,8\pm7,4$), e entre 1 e 3 meses para o grupo de LPB ($\bar{x}1,6\pm0,86$).

A maioria dos pacientes do grupo de LDGCB-SOE foram tratados com o esquema de quimioterapia sistêmica CHOP (Ciclofosfamida, Hidroxicarbunomicina, Oncovin, Prednisolona) ou R-CHOP, que inclui o Rituximabe à combinação dos quatro medicamentos descritos previamente. A radioterapia foi empregada em dois casos do tumor. A informação sobre o regime terapêutico foi descrita em 4 casos de PCN incluídos no estudo, dos quais dois receberam tratamento quimioterápico e radioterápico associados e dois receberam o transplante de medula óssea além da

radio/quimioterapia. A associação de quimio e radioterapia também foi a terapia realizada para os três casos de LPB cuja informação pôde ser recuperada. Um desses indivíduos também recebeu o regime de terapia antiretroviral. A evolução para o óbito ocorreu em 5/8 pacientes com LDGCB-SOE, 1/8 pacientes com PCN e 2/10 indivíduos com LPB. A Tabela 1 sintetiza as informações clinicopatológicas descritas nessa seção.

Tabela 1 – Características clínicas, laboratoriais e moleculares dos casos incluídos no estudo

Parâmetro	LPB (n = 10)	LDGCB-SOE (n = 11)	PCN (n = 11)
<i>Idade, média (intervalo±DP)</i>	46,9 (23–81±20,8)	59,2 (30–87±16,9)	65,8 (55–78±8,4)
≥60 anos / <60 anos, n (%)	6 (60%) / 4 (40%)	5 (55%) / 6 (66%)	4 (44%) / 7 (77%)
<i>Sexo, n</i>			
Feminino	2	4	5
Masculino	8	7	6
<i>Localização anatômica, n</i>			
Cavidade oral	10	11	11
Orofaringe	–	3	–
Maxila	–	–	3
Mandíbula	–	–	7
Gengiva	8	–	–
Palato	2	–	–
<i>Sinais e sintomas, n</i>			
Dor	4	2	4
Ulceração	9	6	2
Aumento de volume	10	8	9
Necrose	8	3	2
Duração da doença (em meses) média (intervalo±DP)	1,6 (1–3±0,9)	2,6 (1–6±2)	5,8 (1–24±8)
<i>Status para HIV, n</i>			
Positivo / Negativo	5 / 2	0 / 11	0 / 11
Desconhecido	3	–	–
<i>Status para EBV (EBER)</i>			
Positivo / Negativo	10 / 0	0 / 11	0 / 11
<i>Célula de origem, n</i>			
GCB	NA	4	NA
Não-GCB	NA	7	NA
Índice de proliferação celular – Ki67 (%), média (intervalo±DP)	92% (80–100±5,8)	57% (36–90±13)	29% (5–90±24,3)
<i>Rearranjo do gene MYC, n</i>			
Positivo / Negativo	2 / 4	2 / 9	–
Desconhecido	4	–	11
<i>Rearranjo do gene BCL6, n</i>			
Positivo / Negativo	1 / 5	2 / 9	–
Desconhecido	4	–	11
<i>Rearranjo do gene BCL2, n</i>			
Positivo / Negativo	1 / 5	1 / 10	–
Desconhecido	4	–	11

Legenda: PBL: Linfoma Plasmablastico. DLBCL-NOS: Linfoma difuso de grandes células B, sem outra especificação. PCN: neoplasias plasmócitos. GCB: *germinal B-cell-like*. NA: Não se aplica.

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

5.2 Análise histopatológica e imuno-histoquímica

Microscopicamente, os casos de PBL apresentavam uma proliferação difusa de células neoplásicas de grandes dimensões com um núcleo redondo contendo uma cromatina não condensada e um nucléolo central proeminente, consistente com imunoblastos. Células grandes com núcleo deslocado, nucléolo proeminente, e citoplasma eosinofílico abundante, consistente com plasmablastos, também foram observadas. As mitoses atípicas eram comuns e a necrose estava presente em 8/9 casos. A maioria dos LPBs apresentavam positividade para CD138 (9/10), e VS38c (7/10). O MUM1 foi realizado em 2 casos de PBL e ambos foram positivos. O marcador de células B maduras CD20 foi negativo em todos os casos incluídos, enquanto o CD79a foi positivo em 1/3 casos para os quais o marcador foi avaliado. Todos os casos exibiram positividade para EBER, indicando a presença do vírus EBV. O índice proliferativo médio medido pelo Ki-67 foi de 92%, variando entre 80% e 100% (Tabela 2). As características histopatológicas e imuno-histoquímicas do LPB podem ser observadas na Figura 3.

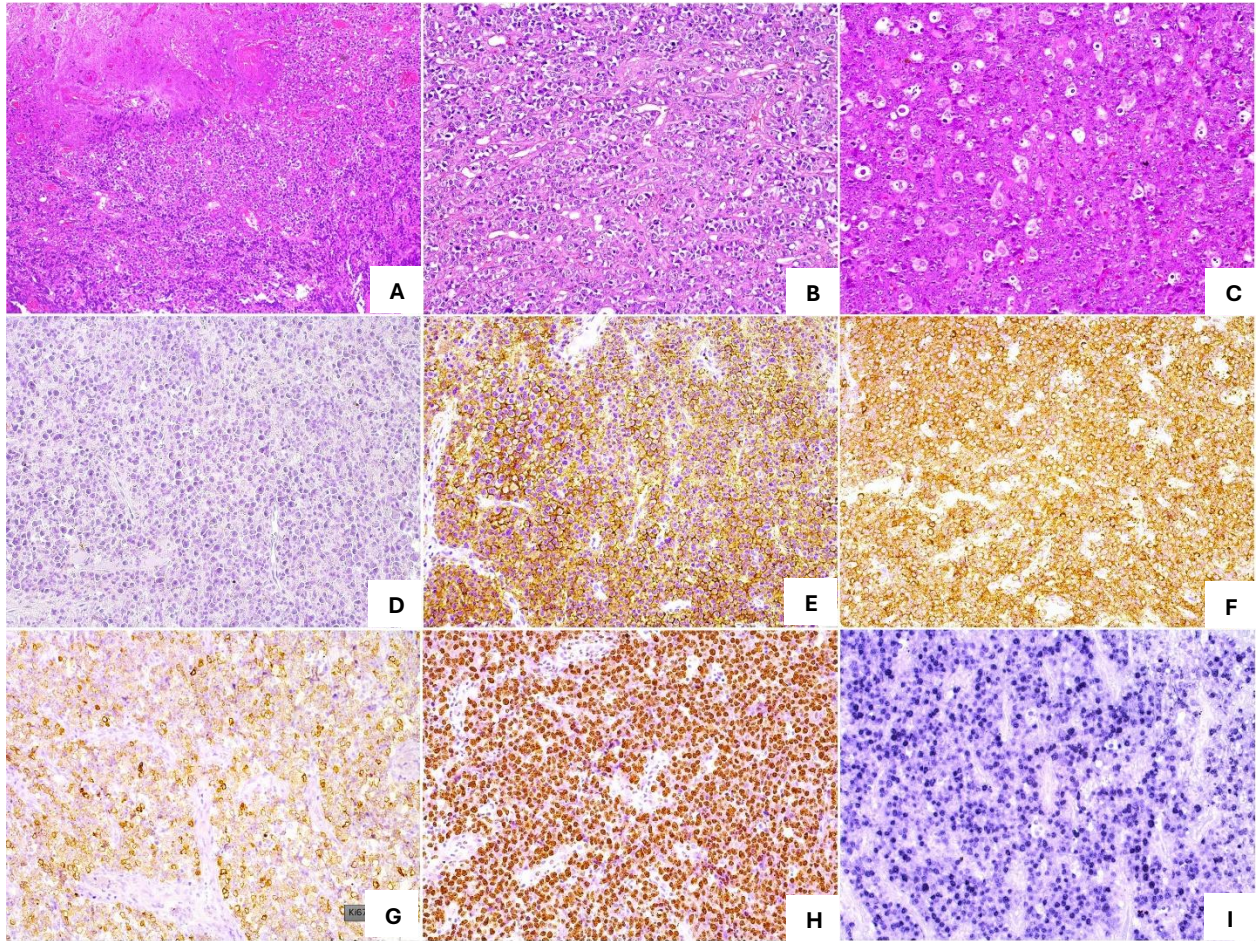
Tabela 2 – Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras linfoma plasmablastico (LPB).

#ID	Group	CD3	CD20	<i>Plasma cell marker</i>	HHV8	ALK	Ki67 (%)	EBER	HIV	FISH BCL2	FISH BCL6	FISH MYC
22	LPB	-	-	+	-	-	95	+	+	NR	NR	NR
24	LPB	-	-	+	-	-	90	+	+	-	-	-
20	LPB	-	-	+	-	-	90	+	NI	NR	NR	NR
23	LPB	-	-	+	-	-	90	+	+	NR	NR	NR
15	LPB	-	-	+	-	-	90	+	+	NR	NR	NR
12	LPB	-	-	+	-	-	90	+	-	-	-	-
11	LPB	-	-	+	-	-	100	+	-	-	-	+
17	LPB	-	-	+	-	-	80	+	NI	-	-	-
14	LPB	-	-	+	-	-	100	+	NI	-	-	-
13	LPB	-	-	+	-	-	95	+	-	+	+	+

Legenda: +: Positivo. -: Negativo. NR: Não realizado. NI: Não informado. Os marcadores plasmocitários incluíram CD138, VS38c e/ou MUM1.

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

Figura 3 – Caracterização morfológica, imunofenotípica e viral das amostras linfoma plasmablástico (LPB).



- Legenda: a) Área extensa de necrose central com infiltração tumoral nas regiões periféricas (H&E, aumento original 10x).
- b) Padrão difuso constituído por células grandes, blastoides, com núcleos vesiculosos e nucléolos proeminentes (H&E, aumento original 20x).
- c) Presença de padrão em “céu estrelado”, evidenciado por macrófagos intercalados entre as células tumorais, sugerindo atividade fagocítica (H&E, aumento original 20x).
- d) Ausência de expressão de CD20, indicando perda do fenótipo B convencional (CD20, aumento original 20x, IHQ).
- e) Forte marcação de membrana para CD138, indicando diferenciação plasmablástica (CD138, aumento original 20x, IHQ).
- f) Expressão difusa de VS38c nas células neoplásicas, compatível com fenótipo plasmocitário (VS38c, aumento original 20x, IHQ).
- g) Positividade para CD79a, marcador frequentemente preservado em LPBs, mesmo na ausência de CD20 (CD79a, aumento original 20x, IHQ).
- h) Alta taxa proliferativa, com positividade nuclear para Ki-67 em mais de 90% das células (Ki-67, aumento original 20x, IHQ).
- i) Forte positividade nuclear para EBER, evidenciando infecção latente pelo vírus Epstein-Barr (EBER-ISH, aumento original 20x, hibridização in situ).

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

A análise histopatológica das amostras de LDGCB-SOE revelou uma proliferação difusa e polimorfa de células predominantemente de grandes dimensões com morfologia de imunoblastos/centroblastos, entremeadas por células menores e hipercromáticas. Áreas de necrose foram observadas em todas as amostras e 4/11

amostras apresentaram aparência histopatológica de céu estrelado. A taxa mitótica foi alta para 7/11 amostras, com mais de quatro mitoses atípicas por campo observado. As reações imuno-histoquímica revelaram uma forte positividade para CD20 em todas as amostras. Quatro amostras (#5, #6, #21, #29) expressaram CD10 em mais de 30% das células tumorais, sendo classificados como subtipo GCB. Outros quatro casos (#1, #2, #18, #31) apresentaram perfil CD10-/BCL6+/MUM1+, dois (#4, #19) foram CD10-/BCL2+/MUM1+, e um caso (#3) demonstrou expressão de BCL2 e BCL6. Assim, sete dos onze casos foram classificados como subtipo não-GCB. O índice médio de proliferação celular mensurado pelo Ki-67 foi de 57%, variando entre 36% e 90%. A hibridização *in situ* revelou negatividade para o EBV em todas as amostras do tumor. A reação de imuno-histoquímica para c-MYC foi positiva em 6/11 amostras, das quais apenas uma apresentou positividade para o rearranjo do gene na reação por hibridização *in situ* (Tabela 3).

Tabela 3 – Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras de linfoma difuso de grandes células B, sem outra especificação (LDGCB-SOE).

#ID	Group	CD3	CD20	Cyclin D1	BCL2	BCL6	MUM1	CD10	c-Myc	Ki67 (%)	EBER	FISH BCL2	FISH BCL6	FISH MYC
4	LDGCB-SOE	-	+	-	+	-	+	-	-	70,5	-	+	+	+
21	LDGCB-SOE	-	+	-	+	+	-	+	-	56,6	-	-	-	-
2	LDGCB-SOE	-	+	-	+	+	+	-	-	70,1	-	-	-	-
1	LDGCB-SOE	-	+	-	-	+	+	-	+	65	-	-	-	-
6	LDGCB-SOE	-	+	-	-	+	+	+	+	59,3	-	-	-	-
18	LDGCB-SOE	-	+	-	+	+	+	-	+	36	-	-	-	-
19	LDGCB-SOE	-	+	-	+	-	+	-	+	51	-	-	-	-
5	LDGCB-SOE	-	+	-	-	+	+	+	+	40,1	-	-	-	-
29	LDGCB-SOE	-	+	-	-	+	-	+	+	90	-	-	+	+
31	LDGCB-SOE	-	+	-	-	+	+	-	-	73,4	-	-	-	-
3	LDGCB-SOE	-	+	-	+	+	-	-	-	48,3	-	-	-	-

Legenda: +: Positivo. -: Negativo.

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

A morfologia observada nos casos de PCN variou entre varia de plasmócitos de aparência madura a variantes plasmablásticas e pleomórficas. Foram observadas células com dispersão da cromatina nuclear, razão núcleo/citoplasma aumentada e nucléolos proeminentes, características de células imaturas. Todas as amostras avaliadas (9/11) foram positivas para os marcadores de diferenciação plasmocitária CD138 e/ou VS38c. Todas as seis amostras avaliadas para CD20 foram negativas e 2/3 amostras avaliadas apresentaram positividade para CD56, marcador

de células *natural killer* (NK). Ainda, 3/11 amostras avaliadas para o marcador de diferenciação epitelial EMA foram positivas. A reação para MUM1 e CD79a foi realizada em duas amostras incluídas no estudo, das quais uma foi positiva para os dois marcadores. O índice médio de positividade para Ki67 foi 29%, variando entre 5% e 90%. (Tabela 4).

Tabela 4 – Características imunofenotípicas e citogenéticas das amostras de amostras de neoplasias de plasmócitos (PCN).

#ID	Group	Involvement of other bones	Diagnosis	CD3	CD20	Plasma cell marker	Light chain restriction	Ki67 (%)	EBER
32	PCN	No	PSO	-	-	+	+ *	5	-
16	PCN	NI	PSO	-	-	+	NR	35	-
9	PCN	Yes	MP	-	-	+	+ §	5	-
10	PCN	Yes	MP	-	-	+	+ §	45	-
26	PCN	NI	PSO	-	-	+	NR	15	-
30	PCN	Yes	MP	-	-	+	+ *	35	-
8	PCN	No	PSO	-	-	+	+ *	10	-
7	PCN	Yes	MP	-	-	+	+ *	90	-
28	PCN	Yes	MP	-	-	+	+ *	40	-
27	PCN	NI	PSO	-	-	+	+ *	30	-
25	PCN	NI	PSO	-	-	+	+ *	10	-

Legenda: +: Positivo. -: Negativo. PSO: plasmocitoma solitário ósseo. MP: mieloma de plasmócitos. NP: Não realizado. * Positividade para kappa. § Positividade para lambda. Os marcadores plasmocitários incluíram CD138, VS38c e/ou MUM1. NI: Não informado.

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

5.3 Análise de rearranjo para os genes *MYC*, *BCL2* e *BCL6*

A hibridização *in situ* por fluorescência foi realizada em 60% dos casos de LPB: um dos casos apresentou rearranjos triplos nos genes *MYC*, *BCL2* e *BCL6*, enquanto outro demonstrou rearranjo isolado em *MYC* (Tabela 2). Todos os casos de LDGCB-SOE foram submetidos à análise por FISH. Um rearranjo triplo envolvendo *MYC*, *BCL2* e *BCL6* foi identificado em um caso (#4), e outro caso (#29) apresentou rearranjo duplo envolvendo *MYC* e *BCL6* (Tabela 3). Assim, o caso #4 foi reclassificado como HGBCL (*high-grade b cell lymphoma*) com rearranjos em *MYC* e *BCL2* (HGBCL-DH-BCL2), e o caso #29 como HGBCL com rearranjos em *MYC* e *BCL6* (HGBCL-DH-BCL6), conforme as recomendações vigentes da WHO (*World*

Health Organization) e do ICC (*International Consensus Classification*). Apesar da reclassificação baseada nos critérios da WHO/ICC, ambos os casos foram mantidos no grupo de LDGCB-SOE para fins de análise de expressão gênica, em razão da morfologia e do imunofenótipo compatíveis. Como representavam apenas 18% do grupo, sua inclusão não foi considerada impactante para os resultados globais.

5.4 Ensaio de expressão gênica

5.4.1 Revisão dos dados

A revisão das fotografias das placas revelou a adequada emissão de fluorescência pela maior parte dos poços (APÊNDICE B). O estado de amplificação de cada placa foi avaliado individualmente e os alvos considerados pelo software como amplificados que apresentaram mais de três sinalizações de interferência em conjunto com deformidades na curva de amplificação foram excluídos da análise. Ainda, a presença de sinalizações de interferência foi avaliada em cada amostra individualmente. As amostras #18 e #31 apresentaram mais de 1800 sinalizações de interferência e, por isso, foram excluídas da análise.

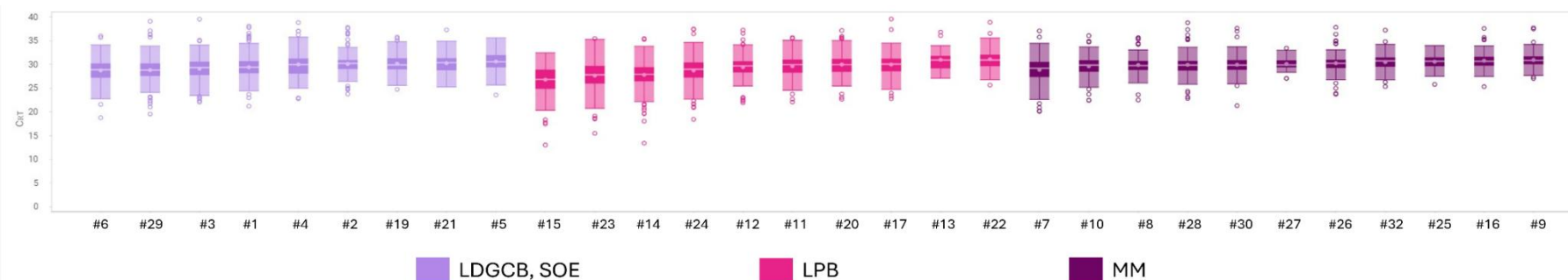
A média dos valores de C_{RT} dos genes avaliados em cada amostra variou entre 26,8 (amostra #15) e 31,1 (amostra #22). A distribuição dos valores de C_{RT} entre as amostras pode ser observada na Figura 4.

5.4.2 Perfil de expressão de genes inflamatórios

A expressão diferencial dos genes foi avaliada em três conjuntos de análise considerando em cada análise um dos biogrupos do estudo como amostra de referência. O perfil global de expressão gênica foi primeiramente avaliado utilizando um mapa de calor que pode ser visualizado no Apêndice C. Embora os biogrupos não tenham sido discriminados pelo algoritmo de clusterização não supervisionado, observou-se uma diferença visual entre os níveis de expressão global, sendo o perfil de expressão do LPB mais semelhante ao observado no LDGCB-SOE do que no PCN. A observação visual foi confirmada pela análise de correlação de Pearson que revelou uma correlação do perfil de expressão de genes inflamatórios discretamente maior

entre o LPB e o LDGCB-SOE ($r = 0.86$) do que entre o LPB e o PCN ($r = 0.78$) (Figura 4 A e B). A correlação entre o grupo de PCN com o grupo de LDGCB-SOE foi ligeiramente maior ($r = 0.81$) do que o observado entre o LPB e o PCN (Figura 4 C). Dessa forma, os resultados do presente estudo sugerem que o LPB apresenta um perfil de expressão de genes inflamatórios mais semelhante ao LDGCB-SOE e mais distinto do PCN.

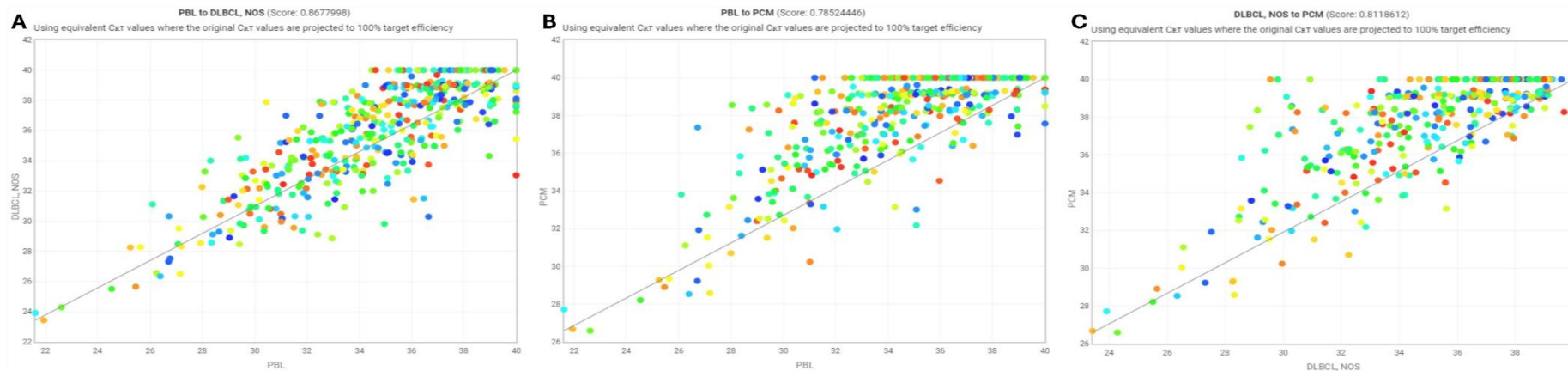
Figura 4 – Gráficos de caixa exibindo a variação dos valores de C_{RT} das amostras do estudo



Legenda: LDGCB-SOE: Linfoma Difuso de Grandes Células B, Sem Outra Especificação. PCN: Plasmocitoma/Mieloma Múltiplo. LPB: Linfoma Plasmoblástico. Eixo Y: C_{RT} . Eixo X: amostras avaliadas.

FONTE: Gerado pela autora em Thermo Fisher Connect Platform. <https://www.thermofisher.com/br/en/home/digital-science/thermo-fisher-connect.html?SID=fr-cloud-2>

Figura 5 – Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação de Pearson entre os grupos de estudo



Legenda: a) LPB vs. LDGCB-SOE. $r = 0,86$

b) LPB vs. PCN. $r = 0,78$

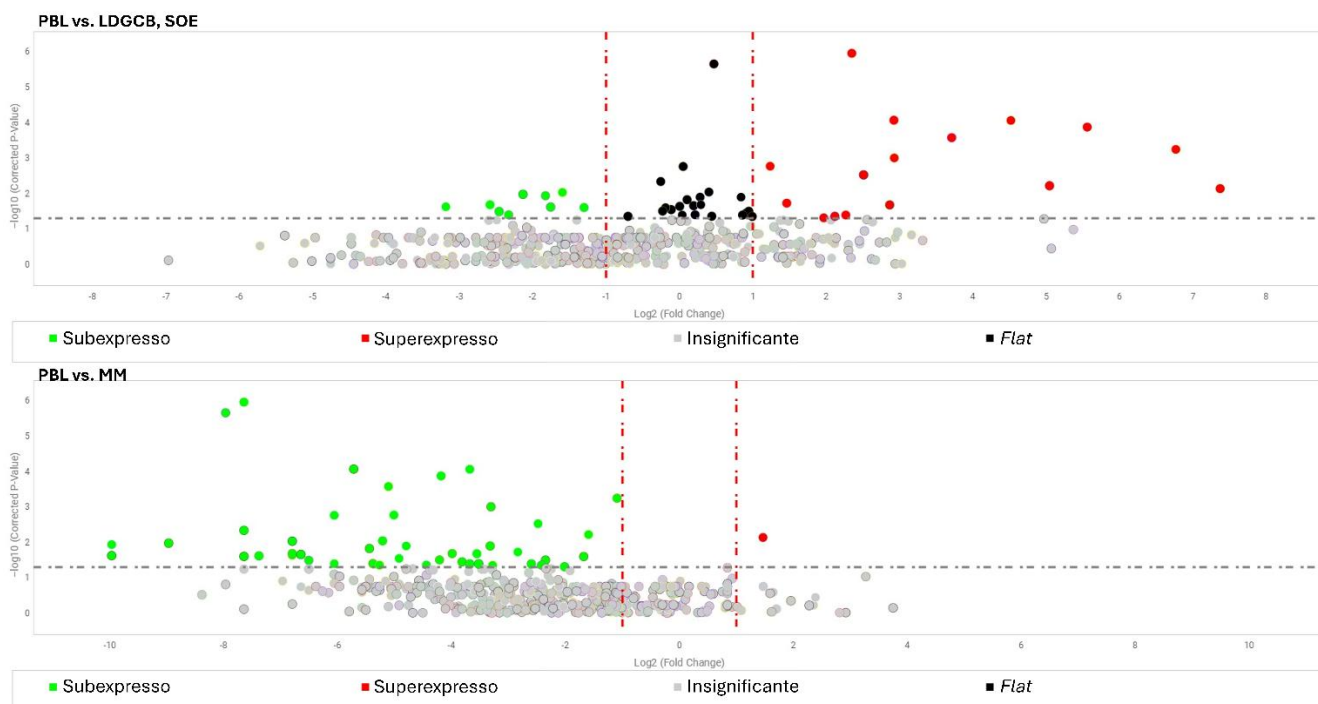
c) LDGCB-SOE vs. PCN. $r = 0,81$

FONTE: Gerado pela autora em Thermo Fisher Connect Platform. <https://www.thermofisher.com/br/en/home/digital-science/thermo-fisher-connect.html?SID=fr-cloud-2>

5.4.3 Genes diferencialmente expressos

Utilizando o LPB como grupo de referência, 71 dos 607 genes alvo avaliados foram diferencialmente expressos, sendo 54 genes subexpressos e 17 superexpressos. Dos 54 genes subregulados, 45 foram detectados no grupo de PCN e 9 encontravam-se subexpressos pelo LDGCB-SOE. Dos 17 superregulados, 16 foram superexpressos pelo LDGCB-SOE e apenas um no grupo de PCN. Ainda, 21 genes apresentaram expressão diferencial ($p < 0,05$) entre o LPB e o LDGCB-SOE, mas não foram classificados como sub ou superregulados de acordo com o limite de *fold-change*, sendo rotulados como *Flat*. Ao considerar o grupo de LDGCB-SOE como o grupo referencial da análise, 140 genes com diferenças de expressão significativas foram encontrados. Destes, 61 foram superregulados, sendo 60 no grupo de LPB e 1 no grupo de PCN. Dos 75 genes subregulados, apenas 5 foram detectados no grupo de PBL, e os 70 restantes no grupo de PCN. Trinta e dois genes foram qualificados como *Flat*, sendo 19 no grupo de PBL e 13 no grupo de PCN. Por último, ao utilizar o grupo de PCN como referência, observamos a expressão diferencial de 13 genes, 11 superregulados (LDGCB-SOE = 5; PBL = 6) e 2 subregulados, um em cada grupo comparador. O gráfico de vulcão representa visualmente a distribuição diferencial dos genes considerando o PBL como grupo de referência (Figura 5 A e B). Os gráficos de vulcão gerados utilizando como referência os grupos de LDGCB-SOE e PCN podem ser visualizados nos APÊNDICE D e E, respectivamente.

Figura 6 – Gráficos de vulcão. Genes diferencialmente expressos entre os grupos de estudo.



Legenda: Os pontos em verde indicam os genes subexpressos, enquanto os pontos em vermelho ilustram os genes superexpressos. Os pontos em preto correspondem aos genes com significância estatística, porém com *fold-change* entre -2 e 2. Os pontos coloridos em cinza representam os genes com expressão diferencial insignificante entre os grupos. O eixo Y representa o valor de p corrigido ($p < 0,05$). O eixo X representa os valores de *fold-change*.

a) LPB vs. LDGCB-SOE.

b) LPB vs. PCN.

FONTE: Gerado pela autora em Thermo Fisher Connect Platform.

<https://www.thermofisher.com/br/en/home/digital-science/thermo-fisher-connect.html?SID=fr-cloud-2>

Diagramas de Venn foram construídos a fim de favorecer a visualização de possíveis conjuntos intersecção entre os genes sub e superexpressos por cada grupo em estudo (Figura 6 A-C). Considerando o PBL como grupo de referência, dos 15 dos 16 genes genes superexpressos pelos LDGCB-SOEs, foram subexpressos pelas amostras de PCN. Apenas o gene *CR2* foi superexpresso por ambos os tumores em relação ao PBL. Dos 54 genes subexpressos, 21 foram exclusivamente encontrados no grupo de PCN, enquanto 9 também foram subexpressos pelas amostras de LDGCB-SOE. Dos 61 genes superexpressos ao utilizar as amostras de LDGCB-SOE como referência, o gene *BMP6* foi o único superexpresso pelo grupo de PCN. Entre os 60 genes restantes, 13 foram exclusivamente superexpressos pelos LPBs, enquanto 47 estavam superexpressos pelo grupo de LPB e subexpressos pelos PCNs. Dezoito genes foram exclusivamente subexpressos no grupo de PCN e os 5 genes subexpressos pelo grupo de PBL também encontravam-se com menor

expressão entre os PCNs. Em última análise, rotulando o grupo de PCN como referencial, dos 6 genes superexpressos pelo grupo de PBL, 2 também exibiram expressão aumentada no grupo de LDGCB-SOE, enquanto um estava subexpresso. O gene *CR2* apresentou uma expressão diminuída no grupo de PBL e aumentada no LDGCB-SOE, enquanto o *TGFB2* foi superexpresso pelo PBL e subexpressos pelo LDGCB-SOE. Os conjuntos de genes ilustrados pelos diagramas de Venn estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Genes diferencialmente expressos entre os grupos de estudo.

Comparação	Direção em relação ao LPB	Número de genes	Genes
PCN vs. LPB	Subexpresso	20	<i>DDX58, TNFRSF9, IL10RA, F3, STAT5A, IL17RA, CD163, BLNK, PTPRC, CYBB, POLR2A, NFKB1, FAS, IL18, IGFBP4, ITGB2, FPR2, SECTM1, IL21R, CD24, CD274</i>
PCN e LDGCB-SOE vs. LPB	Subexpresso	9	<i>AXL, CCL5, CXCL9, TNFSF8, IL32, MAPK14, C1QB, STAT4, TNFRSF1B</i>
Genes subexpressos em PCN e superexpressos em LDGCB-SOE em relação ao LPB	Expressão oposta	15	<i>BCL2A1, BCL6, C3, CARD4, CCL19, CCR7, CD40, CD80, CLU, CXCL13, IL2RA, IL4R, PLA2G2D, PTPN6, TNFSF12</i>
PCN e LDGCB-SOE vs. LPB	Superexpresso	1	<i>CR2</i>

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

5.4.4 Enriquecimento funcional e análise em rede de interação

Os enriquecimentos significativos observados podem ser organizados em três principais categorias de eventos biológicos: (1) mecanismos de defesa imunológica contra patógenos, (2) mecanismos de regulação do ciclo, sobrevivência, e diferenciação celular (3) processos regulatórios envolvidos na resposta inflamatória. Para a primeira categoria estão incluídas a via de interação de proteínas virais com citocinas e receptores de citocinas ($p = 1.19^{-07}$), a via do sistema complemento e cascatas de coagulação ($p = 0,0005$), a via de diferenciação de células Th1 e Th2 ($p = 0.0006$), a via de diferenciação de células Th17 ($p = 0.001$), a via de sinalização dos receptores tipo Toll ($p = 0.001$), a via de sinalização do receptor do tipo NOD ($p = 0.03$), e os mecanismos de formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos ($p = 0.04$).

As vias de sinalização celular JAK-STAT ($p = 0.001$) e NF-kappa B ($p = 0.01$), representam o segundo grupo de vias enriquecidas, enquanto a via de interação receptores citocina-citocina ($p = 6.26^{-14}$), a via de sinalização de quimiocinas ($p = 0.04$), e de fatores de necrose tumoral (TNF) ($p = 0.03$) compõem o grupo de vias enriquecidas relacionadas à modulação inflamatória no tumor. As vias enriquecidas e os seus respectivos genes de intersecção podem ser observados na Tabela 5.

A análise STRING foi conduzida para visualizar potenciais redes de interação proteína-proteína formadas pelos genes diferencialmente expressos. Quatro redes de interação foram agrupadas. O primeiro agrupamento incluiu os genes associados à regulação da interação de proteínas virais com citocinas e receptores de citocinas; à quimiotaxia de neutrófilos e à regulação da montagem dos dendritos das células dendríticas. O segundo agrupamento reuniu os membros da família TNF e seus respectivos genes de interação. A terceira rede foi formada por membros do sistema complemento e cascatas de coagulação. Os genes associados à ativação da via de sinalização celular JAK-STAT por meio da família de interleucina 2 (IL2) compuseram o quarto grupamento. A rede de interação formada e seus respectivos grupamentos podem ser visualizados na Figura 7 A-E.

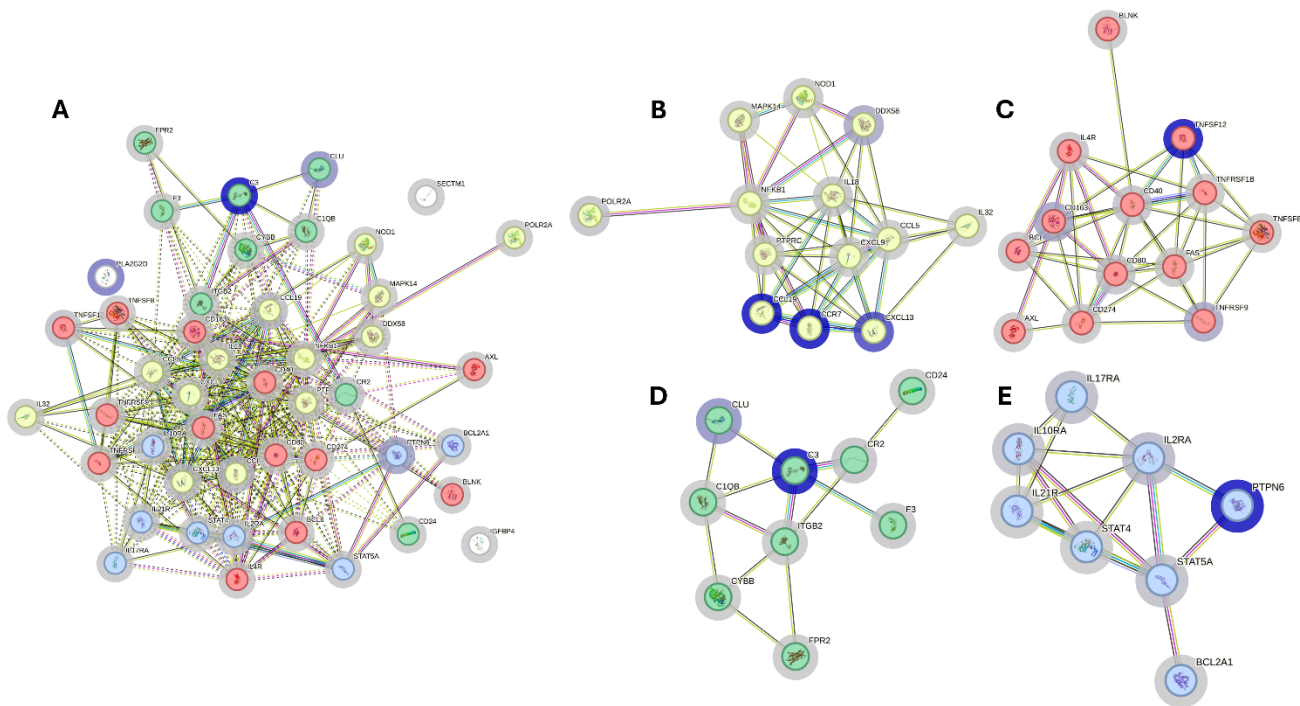
Tabela 6 – Vias de sinalização enriquecidas e seus respectivos genes de intersecção.

Fonte	Via de sinalização	p-valor*	Genes enriquecidos
KEGG	Interação entre citocinas e receptores de citocinas	6.26E-14	<i>CXCL13, CCL19, CCR7, IL2RA, TNFSF12, CCL5, CXCL9, TNFSF8, IL32, TNFRSF1B, IL4R, CD40, TNFRSF9, IL10RA, IL17RA, FAS, IL18, IL21R</i>
KEGG	Interação de proteínas virais com citocinas e receptores de citocinas	1.19E-07	<i>CXCL13, CCL19, CCR7, IL2RA, CCL5, CXCL9, TNFRSF1B, IL10RA, IL18</i>
KEGG	Complemento e cascatas de coagulação	0.0005	<i>C3, CLU, CR2, C1QB, F3, ITGB2, IL2RA, MAPK14, STAT4, IL4R, STAT5A, NFKB1</i>
KEGG	Diferenciação de células Th1 e Th2	0.0006	<i>IL2RA, MAPK14, IL4R, STAT5A, NFKB1</i>
KEGG	Diferenciação de células Th17	0.001	<i>IL21R</i>
KEGG	Via de sinalização dos receptores do tipo Toll	0.001	<i>CCL5, CXCL9, MAPK14, CD40, CD80, NFKB1, PTPN6, IL2RA, STAT4, IL4R, IL10RA, STAT5A, IL21R</i>
KEGG	Via de sinalização JAK-STAT	0.001	<i>STAT5A, IL21R</i>
KEGG	Via de sinalização NF-kappa B	0.01	<i>CCL19, BCL2A1, CD40, BLNK, NFKB1</i>
KEGG	Via de sinalização do TNF	0.03	<i>CCL5, MAPK14, TNFRSF1B, NFKB1, FAS</i>
KEGG	Via de sinalização do recetor do tipo NOD	0.03	<i>CCL5, CARD4, MAPK14, CYBB, NFKB1, IL18</i>
KEGG	Formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos	0.04	<i>C3, MAPK14, CYBB, NFKB1, ITGB2, FPR2, CXCL13, CCL19, CCR7, CCL5, CXCL9, NFKB1</i>
KEGG	Via de sinalização das quimiocinas	0.04	<i>NFKB1</i>

Legenda: *Correção de Bonferroni.

FONTE: Elaborado pela autora, 2025.

Figura 8 – Redes de interação proteína-proteína.



- Legenda: a) Rede de interação formada pelos genes diferencialmente expressos usando o grupo de LPB como referência.
 b) Agrupamento 1: genes associados à regulação da interação de proteínas virais com citocinas e receptores de citocinas; à quimiotaxia de neutrófilos e à regulação da montagem dos dendritos das células dendríticas.
 c) Agrupamento 2: membros da família TNF e seus respectivos genes de interação.
 d) Agrupamento 3: membros do sistema complemento e cascatas de coagulação.
 e) Agrupamento 4: genes associados à ativação da via de sinalização celular JAK-STAT por meio da família de interleucina 2 (IL2).

FONTE: Gerado pela autora em STRING, 2025. <https://string-db.org/>

6 DISCUSSÃO

Desde o seu reconhecimento por Delecluse e colaboradores no final dos anos 90, o LPB permanece como uma doença de diagnóstico e tratamento desafiadores (Delecluse *et al.*, 1997). O desafio diagnóstico se deve principalmente a extensa lista de sobreposições fenotípicas e moleculares que o tumor apresenta com os seus dois principais mímicos: o LDGCB-SOE e o PCN (Montes-Moreno *et al.*, 2010c). Clinicamente, os LPBs desenvolvidos em cavidade oral se sobrepõem principalmente com o LDGCB-SOE. Ambos se apresentam frequentemente como lesões tumorais localizadas na gengiva ou no palato de indivíduos do sexo masculino de idade avançada e/ou imunossuprimidos (de Arruda *et al.*, 2021; Rodrigues-Fernandes *et al.*, 2018, 2019). Morfologicamente, a distinção entre o LPB e o LDGCB-SOE de morfologia imunoblástica (Ott *et al.*, 2010) ou fenótipo plasmablástico parcial (Chang *et al.*, 2009; Montes-Moreno *et al.*, 2010c) é igualmente complexa. Embora a detecção de positividade para o vírus EBV favoreça o diagnóstico de LPB, como o observado no presente estudo, ocasionalmente o vírus também pode estar presente em casos de LDGCB-EBV+ (Chapman *et al.*, 2021; Rodrigues-Fernandes *et al.*, 2019).

A falta de características fenotípicas distintas entre o PBL e o PCN são observadas principalmente nos casos de PCN com morfologia plasmablástica, principalmente quando os indivíduos afetados não preenchem os critérios de diagnóstico SLiM CRAB, ou nos casos cuja manifestação extramedular é a apresentação inicial da doença (Ahn *et al.*, 2017; Montes-Moreno *et al.*, 2010c, Pratt *et al.*, 2015, Chen *et al.*, 2022). Vega e colaboradores (2005) denominaram o imunofenótipo apresentado por amostras de PCN de alto grau com componente plasmablástico como “praticamente idêntico” ao das amostras de PBL. Ambos os tumores foram positivos para MUM1/IRF4, CD138 e CD38, e negativos para CD20. PAX5 e BCL6 foram fracamente positivos em 2/9 e 1/5 dos PBL e negativos em todos os PCN. Ainda, todos os casos apresentaram um alto índice de proliferação celular, superexpressão de p53 e perda de expressão de p16 e p27. A única diferença significativa entre os tumores foi a positividade para EBER em todos os casos de PBL e a ausência em todos os casos de PCN (Vega *et al.*, 2005).

Embora todas essas sobreposições diagnósticas representem o maior desafio para o manejo adequado dos pacientes acometidos por esses tumores,

incluímos no presente estudo apenas os casos com apresentação clínica, histopatológica, e imunofenotípica clássica, pois, a inclusão de casos limítrofes, poderia introduzir variáveis confundidoras para a análise da expressão diferencial entre os grupos estudados. A reação de hibridização *in situ* para EBER foi realizada em todas as amostras do estudo. O vírus foi detectado em todos os casos de PBL e ausente nos demais grupos. O índice de proliferação celular também foi marcadamente diferente entre os grupos. Enquanto a porcentagem média de positividade para Ki67 no grupo de PBL foi de 92%, o grupo de LDGCB-SOE apresentou 57% e apenas 29% foi observado no grupo de PCN. Embora um maior número de óbitos tenha sido registrados nos casos de LDGCB-SOE (5/11) do que no de PBL (2/10), o segundo grupo apresentou menor tempo de evolução da doença ($\bar{x}2,7\pm1,9$) em relação ao primeiro ($\bar{x}1,6\pm0,86$). Apenas um óbito foi reportado nos casos de PCN para os quais essa informação pôde ser recuperada (8/11). Coletivamente, esses achados sugerem que os LPBs avaliados nesse estudo apresentaram um comportamento clínico mais agressivo do que o observado no LDGCB-SOE e no PCN, o que é consistente com o relatado na literatura (Li *et al.*, 2024b). Possivelmente, a inclusão desses casos bem delimitados repercutiu nas diferenças observadas entre os grupos, especialmente entre as amostras de LPB e PCN.

De modo geral, uma maior quantidade de genes diferencialmente expressos foi observada entre as amostras de LPB e PCN (46) do que entre as amostras de LPB e LDGCB-SOE (25) incluídas neste estudo. Esse achado contrasta com o que foi observado por Chapman e colegas (2015) (Chapman *et al.*, 2015). Segundo os autores, o perfil de expressão gênica do LPB foi mais similar ao do PCN do que ao do LDGCB-SOE, o que poderia ter ocorrido devido à origem plasmocitária dos dois tumores (Chapman *et al.*, 2015). Apesar das similaridades descritas pelos autores, em uma análise comparativa da paisagem mutacional do PBL, foram encontrados cinco genes *drivers* compartilhados entre o LPB e o LDGCB-SOE e apenas um compartilhado entre o PBL e o PCN (Witte *et al.*, 2022). No presente estudo, dos 46 genes diferencialmente expressos entre o LPB e o PCN, 45 estavam subexpressos. Nove desses 45 genes subexpressos pelo PCN em relação ao LPB, também foram subexpressos no grupo de LDGCB-SOE em relação ao PBL, e 15 desses estavam superexpressos pelos LDGCB-SOE em relação ao PBL. Apenas o

gene *Complement receptor type 2 (CR2)* foi superexpresso por ambos os grupos em relação ao LPB.

O gene *CR2*, também nomeado por *CD21*, codifica a proteína de membrana *CR2* que atua como receptora para a ligação do vírus EBV aos linfócitos B e T. O gene *CR2* é um dos fragmentos gerados pela ativação do gene *C3*, componente central para a ativação do sistema complemento durante a resposta contra patógenos (Frade, 1986). Curiosamente, enquanto o gene *CR2* foi subexpresso, o gene *C3* e a sua primeira subunidade de ativação, *C3AR1*, foram superexpressos pelos LPBs do presente estudo. Já foi visto que a superregulação de *CR2* é dependente de um contexto celular permissivo (Cordier-Bussat *et al.*, 1993). A variante não imortalizante do EBV, P3HRI, que carrega uma deleção que engloba o gene *EBV nuclear antigen 2 (EBNA2)*, não induz a expressão de *CR2* (Calender *et al.*, 1987, 1990). Ainda, a subexpressão do gene *EBNA2* foi associada à perda completa da proteína *CR2* (Larcher *et al.*, 1995). Contudo, embora a variante P3H1 não resulte na expressão de *CR2*, um estudo recente mostrou que a injeção dessa cepa deletada induziu o desenvolvimento de linfomas de células B positivos para EBV em camundongos humanizados, sugerindo que o gene *EBNA2* não é estritamente necessário para o desenvolvimento de linfomas EBV-positivos (Li *et al.*, 2020).

Li e colaboradores (2020), ainda mostraram que os linfomas induzidos pela variante EBV-P3H1 mostraram dois tipos de fenótipos e latência viral. O primeiro marcado por células grandes, frequentemente multinucleadas, CD30 +, CD45 - similares às células Reed-Sternberg (RS) com a expressão de altos níveis de LMP1, mas não EBNA-LP, consistente com latência viral tipo II. O segundo, composto por células menores monomórficas, CD30 -, semelhantes ao LDGCB-SOE, com expressão de EBNA-LP e EBNA3A, mas não LMP1, consistente com o estágio de latência restrita à Wp, na qual o genoma do vírus com o gene *EBNA2* deletado amplia a expressão do antígeno para incluir as proteínas EBNA3A, -3B e -3C e BHRF1 (Kelly; Bell; Rickinson, 2002; Kelly *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2020). Curiosamente, ainda que as cepas EBV-P3H1 expressem os antígenos EBNA 3A, -3B e -3C imunodominantes, elas permaneceram irreconhecíveis pelas células T CD8 + específicas de EBNA3 (Kelly; Bell; Rickinson, 2002). Em um estudo com linfomas de Burkkit, foi visto que as células B infectadas por EBV só adquirem boa função de processamento de antígenos quando a maquinaria de processamento é regulada positivamente por LMP1 (Rowe *et al.*, 1995). Coletivamente, a correlação dos achados da literatura com a

superexpressão de *C3* e *C3AR1*, e a subexpressão de *CR2* observadas nos PBLs, pode indicar a infecção das amostras do presente estudo pela cepa EBV-P3H1. Dessa forma, a investigação do estágio de latência viral é fundamental para a definição do papel patogênico do EBV nessas amostras e para o subsequente desenvolvimento de estratégias imunoterapêuticas específicas para o tumor.

A identificação de alvos diagnósticos e terapêuticos específicos para o LPB é atualmente o principal objetivo dos estudos de caracterização molecular dessa neoplasia. Isso ocorre porque, comparado aos outros dois tumores avaliados no presente estudo, o LPB é o que apresenta comportamento clínico mais agressivo e prognóstico mais sombrio, com as menores taxas de resposta aos regimes quimioterápicos disponíveis e, conseqüentemente, maior ocorrência de óbitos (Folk *et al.*, 2006; Grimm; O'malley, 2019). O predomínio da morfologia imunoblástica e positividade para PDRM1/BLIMP1, imunofenótipo característico dos PBLs, nos LDGCB-SOE, foram considerados achados significativos para a determinação de um prognóstico desfavorável para a doença (Ott *et al.*, 2010, Montes-Moreno *et al.*, 2010b). Os tumores PDRM1/BLIMP1 positivos apresentaram curso clínico agressivo, com baixa taxa de resposta ao regime RCHOP, assim como observado na maior parte dos LPBs (Montes-Moreno *et al.*, 2010b).

As mutações oncogênicas pervadindo os genes das vias de sinalização celular JAK-STAT e MAPK-ERK têm sido descritas como os principais eventos moleculares associados ao LPB (Chen *et al.*, 2024; Liu *et al.*, 2020c). Contudo, mutações recorrentes em *STAT3* também foram identificadas em amostras HIV e EBV-positivas de LDGCB de células B ativadas, o subtipo histológico mais semelhante ao LPB (Chapman *et al.*, 2021). Os autores ainda viram que os pacientes afetados por esses tumores apresentaram quadros mais graves de imunocomprometimento, com baixa contagem de linfócitos CD4, e menor sobrevida geral (Chapman *et al.*, 2021). Mutações nos genes da família RAS também marcaram a paisagem molecular do mieloma extramedular com transformação plasmablástica e do PCN (Liu *et al.*, 2020a, Liu *et al.*, 2020c). O compartilhamento dessas alterações genéticas torna ainda mais desafiadora a delimitação da fronteira diagnóstica e terapêutica entre o PBL e esses dois tumores. No entanto, ainda que essas sobreposições moleculares tenham sido observadas, o perfil de ativação da via JAK-STAT no LPB apresentou programas transcricionais e mutações somáticas específicas, o que repercutiu na definição da via como o alvo terapêutico mais promissor para o tumor (Liu *et al.*, 2020c).

No presente estudo, diversos componentes das vias JAK-STAT e MAPK-ERK foram diferencialmente expressos entre os grupos. Os genes *STAT4* e *MAPK14* foram subexpressos pelas amostras de PCN e LDGCB-SOE em relação às amostras de PBL. As amostras de PCN apresentaram ainda a subexpressão de *STAT5A* em relação aos PBLs e de *STAT5A* e *STAT5B* em relação aos LDGCBs, SOE. Curiosamente, o gene *SOCS2*, regulador negativo induzível por citocina da via JAK/STAT, foi superexpresso pelo grupo de PBL em relação ao grupo de LDGCB-SOE. Um estudo com linhagens celulares de linfoma de células T evidenciou que a ativação de *STAT1*, *STAT3*, ou *STAT5* é necessária para a indução da expressão de *SOCS2*, mas que apenas *STAT1* e *STAT3* conseguiam induzir a expressão de *SOCS3*. Interessantemente, apenas *SOCS3* foi capaz de inibir a ativação da via STAT (Lejeune; Demoulin; Renauld, 2001). Esses achados podem explicar a superexpressão concomitante dos genes *STAT4* e *SOCS2* observada nos LPBs em comparação aos LDGCB-SOE do nosso estudo. Não obstante, a subexpressão de *STAT4* e *STAT5A*, nas amostras de LDGCB-SOE, e PCN em relação aos LPBs, são consistentes com a ativação da via JAK-STAT nas amostras de LPB avaliadas, corroborando os achados da literatura que a apontam como um alvo terapêutico promissor para o LPB. No entanto, é válido ressaltar que a ativação dessa via nas amostras do presente estudo precisa ser validada por meio de outras análises, como a imuno-histoquímica para componentes fosforilados de JAK-STAT.

Os genes *BCL2A1* e *BCL6* foram superexpressos nos LDGCB-SOE em relação aos LPBs avaliados na atual coorte. Embora a fusão mais frequente no LDGCB-SOE envolva os genes *MYC* e *BCL2*, uma nova translocação envolvendo $t(14;15)(q32;q24)/IGH-BCL2A1$ foi reportada no tumor, resultando em uma alta expressão de *BCL2A1* (Akasaka *et al.*, 2017). No presente estudo, investigamos a presença da fusão clássica *BCL2/18q21*, em todas as amostras de LDGCB-SOE e em 6/10 amostras de LPB. A fusão foi detectada em apenas uma amostra de cada grupo (#4 e #13, respectivamente). Ambas as amostras também foram positivas para a translocação *BCL6/3q27*. A inibição do gene *BCL2A1* já foi um alvo terapêutico promissor para as neoplasias conduzidas por *MYC* (Sochalska *et al.*, 2017). A investigação da presença da nova translocação reportada por Akasaka e colegas, pode ser realizada a fim de avaliar se a superexpressão de *BCL2A1* nas amostras de LDGCB-SOE do presente estudo está associada com essa alteração genética. A superexpressão de *BCL6* observadas nos LDGCB-SOEs em relação aos LPBs desse

estudo foi esperada, uma vez que a subregulação do gene é pré-requisito para que as células B deixem o centro germinativo e se diferenciem em plasmócitos (Liu *et al.*, 2020c).

Conversamente, o gene *BCL10* foi superexpresso nas amostras de LPB em relação aos LDGCB-SOE. O gene participa diretamente da ativação da via p38 MAPK e NF-Kappa B. A superexpressão de *MAPK14*, uma das quatro quinases membro da família p38 MAPK também foi observada no LPB, enquanto foi subexpressos no LDGCB-SOE. Diversos outros genes relacionados com a ativação das vias MAPK e NF-Kappa B (*IL17RA*, *BLNK*, *FAZ*, *NOD1*, *CD80*, e *TNFSF12*) foram diferencialmente expressos entre o LPB e os seus dois grupos comparadores. Vega e colaboradores (2015) mostraram que amostras de LDGCB-SOE com alta expressão de p38 MAPK apresentaram uma menor taxa de resposta à terapia CHOP, menor período livre de progressão da doença e uma menor sobrevida geral (Vega *et al.*, 2015). Recentemente, um acúmulo de mutações envolvendo o gene *BCL10* foi identificado em amostras de LDGCB de células B ativadas (Xia *et al.*, 2022). Embora essas mutações conferissem resistência aos inibidores de BTK (Xia *et al.*, 2022), um componente essencial de múltiplas vias de sinalização que regulam a proliferação de e a sobrevivência de células B e mieloides (Alu *et al.*, 2022), uma parte delas resultou na hiperresponsividade aos inibidores de MALT1 (Phelan; Oellerich, 2022; Xia *et al.*, 2022). A superexpressão de *MAPK14* e *BCL10* em conjunto com o marcante compartilhamento de características entre os LPBs e os LDGCB de células B ativadas pode suportar a investigação do efeito terapêutico dos inibidores MALT1 para o LPB.

Todas as vias de sinalização celular enriquecidas no presente estudo foram consistentes com o perfil de expressão de genes inflamatórios observado. Além do enriquecimento da via de sinalização JAK-STAT e NF-kappa B, sete vias associadas aos mecanismos de defesa imunológica contra patógenos foram enriquecidas. Os principais genes associados à essas vias foram as quimiocinas *CXCL13*, *CCL19*, *CCR7*, *CCL5*, *CXCL9*, os fatores de necrose tumoral *TNFRSF1B*, *TNFSF12*, *TNFSF8*, e *TNFRSF9*, as interleucinas *IL4R*, *IL2RA*, *IL10RA*, *IL18*, *IL21R*, e *IL32*, e os componentes do sistema complemento *C3*, *CLU*, *CR2*, *C1QB*, *F3*, *ITGB2*.

Na análise de interação proteína-proteína, o gene *BCL6* foi agrupado em conjunto com os membros da superfamília TNF, enquanto *BCL2A1* junto às interleucinas e as subunidades *STAT4* e *STAT5A*. Já foi reportado que o TNF-alfa possui capacidade de regular positivamente a expressão da proteína Bcl-6 de modo

independente de *STAT3*, e que a modulação negativa do gene *BCL6* pode inibir o crescimento das células de PCN em cultivo (Hideshima *et al.*, 2010). Em uma análise do potencial antineoplásico de um agente natural denominado tomentosina em células de linfoma de Burkkit, o gene *BCL2A1* foi associado tanto com a via NF-kappa B como com a via JAK-STAT, e considerado como um possível alvo terapêutico para o tumor, devido a sua subregulação após a aplicação do composto em cultura (Virdis *et al.*, 2021).

O gene *MAPK14* foi agrupado em conjunto com o gene *NFKB1* e diferentes citocinas e quimiocinas. A ativação de *NFKB1* mediada por *MAPK14* foi recentemente descrita em organoides de carcinoma endometrial de alto grau (Joseph *et al.*, 2024). Os autores concluíram que *MAPK14/p38α* promove a tumorigênese e a ativação de *NFKB1* contribui para a manutenção do estado pró-inflamatório (Joseph *et al.*, 2024). O agrupamento de ambos os genes com diversas quimiocinas e citocinas na análise de interação do presente estudo pode sugerir que um mecanismo semelhante ocorra nas amostras estudadas. Entretanto, a experimentação funcional é necessária para a validação dessa hipótese. O último agrupamento da análise de interação STRING incluiu as proteínas do sistema complemento. A positividade para EBER detectada nas amostras avaliadas pode explicar o enriquecimento e o agrupamento desse conjunto de genes.

Embora nosso estudo seja limitado pela natureza retrospectiva dos dados e pelo uso de tecidos incluídos em parafina (FFPE), os protocolos de extração padronizados garantiram qualidade de RNA suficiente para análises robustas. A classificação dos casos de PCN foi dificultada adicionalmente pela ausência de dados relacionados aos critérios CRAB, o que pode ter levado à classificação equivocada entre plasmocitoma solitário e mieloma múltiplo em estágio inicial. Reconhecemos que os casos rotulados como PSO podem, de fato, representar formas iniciais ou não confirmadas de MP, e que alguns casos classificados como MP podem corresponder a mieloma múltiplo estabelecido. Ainda assim, embora PSO e MP sejam entidades distintas, ao focarmos em assinaturas inflamatórias intrínsecas ao tumor, acreditamos que as comparações entre LPB, PCN e LDGCB-SOE permanecem válidas. Por fim, a ausência de amostras de LPB negativas para EBV limitou a compreensão das diferenças impulsionadas por esse vírus, ressaltando a necessidade da inclusão de amostras EBV-negativas em estudos futuros.

7 CONCLUSÃO

Neste estudo, realizamos uma caracterização clínica, histopatológica, imunofenotípica e molecular de amostras LPB, LDGCB-SOE e PCN. A análise do perfil de expressão gênica revelou que o LPB EBV-positivo apresenta assinaturas inflamatórias mais próximas ao LDGCB-SOE do que ao PCN, o que reforça sua classificação como um subtipo agressivo de linfoma de grandes células B. Foram identificados genes diferencialmente expressos diretamente envolvidos na regulação de vias críticas para a patogênese tumoral, com destaque para *STAT4*, *STAT5A*, *STAT5B* e *SOCS2*, relacionados à via JAK-STAT; *MAPK14*, da via MAPK-ERK; *BCL2A1*, *BCL6*, *BCL10* e *NFKB1*, vinculados à sinalização NF-κB; e *C3*, *C3AR1* e *CR2*, associados ao sistema complemento.

A subexpressão de *CR2*, receptor de entrada do EBV, em conjunto com a superexpressão de *C3* e *C3AR1* nas amostras de LPB, sugere um padrão de latência viral restrito à região Wp, que pode favorecer o escape imune e contribuir para a agressividade do tumor. As análises de enriquecimento funcional corroboraram a ativação dessas vias, refletindo a complexa rede de sinalização inflamatória envolvida na biologia do LPB. Embora sejam necessários estudos adicionais para validação clínica, os achados deste estudo não apenas aprofundam a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à linfomagenese do LPB, como também indicam potenciais alvos terapêuticos específicos, com destaque para os inibidores do sistema complemento, como o Pegcetacoplan.

REFERÊNCIAS

- AHN, J. S. *et al.* Plasmablastic lymphoma versus plasmablastic myeloma: An ongoing diagnostic dilemma. **Journal of Clinical Pathology**, v. 70, n. 9, p. 775–780, 1 set. 2017.
- AKASAKA, T. *et al.* The novel double-hit, t(8;22)(q24;q11)/MYC-IGL and t(14;15)(q32;q24)/IGH-BCL2A1, in diffuse large B-cell lymphoma. **Cancer Genetics**, v. 214–215, p. 26–31, 1 ago. 2017.
- ALU, A. *et al.* BTK inhibitors in the treatment of hematological malignancies and inflammatory diseases: mechanisms and clinical studies. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 15, n. 1, p. 138, 1 out. 2022.
- BERGSAGEL, P. L. *et al.* Cyclin D dysregulation: An early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. **Blood**, v. 106, n. 1, p. 296–303, 1 jul. 2005.
- BIBAS, M. PLASMABLASTIC LYMPHOMA. A STATE-OF-THE-ART REVIEW (1). **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. e2024007, 1 jan. 2024.
- BRACK, C. *et al.* A complete immunoglobulin gene is created by somatic recombination. **Cell**, v. 15, n. 1, p. 1–14, set. 1978.
- CABEÇADAS, J. *et al.* Lymphomas of the head and neck region: an update. **Virchows Archiv**, v. 474, n. 6, p. 649–665, 18 jun. 2019.
- CALENDER, A. *et al.* Epstein-Barr virus (EBV) induces expression of B-cell activation markers on in vitro infection of EBV-negative B-lymphoma cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 22, p. 8060–8064, nov. 1987.
- CALENDER, A. *et al.* Modulation of cellular gene expression in B lymphoma cells following *in vitro* infection by Epstein-Barr virus (EBV). **International Journal of Cancer**, v. 46, n. 4, p. 658–663, 15 out. 1990.
- CHANG, C. C. *et al.* Genomic profiling of plasmablastic lymphoma using array comparative genomic hybridization (aCGH): Revealing significant overlapping genomic lesions with diffuse large B-cell lymphoma. **Journal of Hematology and Oncology**, v. 2, 2009.
- CHAPMAN, J. *et al.* Gene expression analysis of plasmablastic lymphoma identifies downregulation of B-cell receptor signaling and additional unique transcriptional programs. **Leukemia**, v. 29, n. 11, p. 2270–2273, 24 nov. 2015.
- CHAPMAN, J. R. *et al.* EBV-positive HIV-associated diffuse large B cell lymphomas are characterized by JAK/STAT (STAT3) pathway mutations and unique clinicopathologic features. **British Journal of Haematology**, v. 194, n. 5, p. 870–878, 1 set. 2021.

CHAPMAN-FREDRICKS, J. *et al.* Extraoral plasmablastic lymphoma with intravascular component and MYC translocation. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 16, n. 1, p. 48–53, jan. 2012.

CHEN, B. J. *et al.* Plasmablastic myeloma in Taiwan frequently presents with extramedullary and extranodal mass mimicking plasmablastic lymphoma. **Virchows Archiv**, v. 481, n. 2, p. 283–293, 1 ago. 2022.

CHEN, B. J. *et al.* Clinicopathological and genetic landscape of plasmablastic lymphoma in Taiwan. **Pathology Research and Practice**, v. 253, 1 jan. 2024.

CHISHOLM, K. M. *et al.* Expression Profiles of MYC Protein and MYC Gene Rearrangement in Lymphomas. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 39, n. 3, p. 294–303, mar. 2015.

CHUNG, J. B.; SILVERMAN, M.; MONROE, J. G. Transitional B cells: step by step towards immune competence. **Trends in Immunology**, v. 24, n. 6, p. 342–348, 1 jun. 2003.

COOPER, M. D.; ALDER, M. N. The evolution of adaptive immune systems. **Cell**, v. 124, n. 4, p. 815–22, 24 fev. 2006.

CORDIER-BUSSAT, M. *et al.* Epstein-barr virus (EBV) nuclear-antigen-2-induced up-regulation of cd21 and cd23 molecules is dependent on a permissive cellular context. **International Journal of Cancer**, v. 53, n. 1, p. 153–160, 2 jan. 1993.

DE ARRUDA, J. A. A. *et al.* Oral and oropharyngeal lymphomas: A multi-institutional collaborative study. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 50, n. 6, p. 603–612, 1 jul. 2021.

DELECLUSE, H. J. *et al.* Plasmablastic lymphomas of the oral cavity: a new entity associated with the human immunodeficiency virus infection. **Blood**, v. 89, n. 4, p. 1413–20, 15 fev. 1997.

D'HAESELEER, P. How does gene expression clustering work? **Nature Biotechnology**, v. 23, n. 12, p. 1499–1501, dez. 2005.

FOLK, G. S. *et al.* Plasmablastic lymphoma: A clinicopathologic correlation. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 10, n. 1, p. 8–12, fev. 2006.

FONSECA, F. P. *et al.* Oral plasmablastic lymphoma: A clinicopathological study of 113 cases. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 50, n. 6, p. 594–602, 1 jul. 2021.

FRADE, R. Structure and functions of GP 140, the C3d/EBV receptor (CR2) of human B lymphocytes. **Molecular Immunology**, v. 23, n. 11, p. 1249–1253, nov. 1986.

FRONTZEK, F. *et al.* Molecular and functional profiling identifies therapeutically targetable vulnerabilities in plasmablastic lymphoma. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2021.

GARCIA-REYERO, J. *et al.* Genetic lesions in MYC and STAT3 drive oncogenic transcription factor overexpression in plasmablastic lymphoma. **Haematologica**, v. 106, n. 4, p. 1120–1128, 1 abr. 2021.

GRIMM, K. E.; O'MALLEY, D. P. Aggressive B cell lymphomas in the 2017 revised WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 38, p. 6–10, 1 fev. 2019.

GRIMWADE, D. *et al.* The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. **Blood**, v. 92, n. 7, p. 2322–33, 1 out. 1998.

HANSRA, D. *et al.* Oral and extraoral plasmablastic lymphoma: Similarities and differences in clinicopathologic characteristics. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 134, n. 5, p. 710–719, nov. 2010.

HASSAN, A. *et al.* Plasmablastic Lymphoma of Head and Neck: Report of Two New Cases and Correlation with c-myc and IgVH Gene Mutation Status. **Head and Neck Pathology**, v. 1, n. 2, p. 150–155, 2007.

HIDESHIMA, T. *et al.* A proto-oncogene BCL6 is up-regulated in the bone marrow microenvironment in multiple myeloma cells. **Blood**, v. 115, n. 18, p. 3772–3775, 6 maio 2010.

HUANG, X.; ZHANG, Y.; GAO, Z. Plasmablastic lymphoma of the stomach with C-MYC rearrangement in an immunocompetent young adult: A case report. **Medicine (United States)**, v. 94, n. 4, 1 jan. 2015.

JACOB, J. *et al.* Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centres. **Nature**, v. 354, n. 6352, p. 389–392, dez. 1991.

JOSEPH, S. *et al.* MAPK14 /p38 α Shapes the Molecular Landscape of Endometrial Cancer and promotes Tumorigenic Characteristics. **bioRxiv : the preprint server for biology**, 29 jun. 2024.

KARUBE, K.; SATOU, A.; KATO, S. New classifications of B-cell neoplasms: a comparison of 5th WHO and International Consensus classifications. **International Journal of Hematology**, 2024.

KELLY, G.; BELL, A.; RICKINSON, A. Epstein-Barr virus-associated Burkitt lymphomagenesis selects for downregulation of the nuclear antigen EBNA2. **Nature Medicine**, v. 8, n. 10, p. 1098–1104, 1 out. 2002.

KELLY, G. L. *et al.* Different Patterns of Epstein-Barr Virus Latency in Endemic Burkitt Lymphoma (BL) Lead to Distinct Variants within the BL-Associated Gene Expression Signature. **Journal of Virology**, v. 87, n. 5, p. 2882–2894, mar. 2013.

KELSOE, G. Life and Death in Germinal Centers (Redux). **Immunity**, v. 4, n. 2, p. 107–111, fev. 1996.

KIMANI, S. M. *et al.* Epidemiology of haematological malignancies in people living with HIV. **The Lancet HIV**, v. 7, n. 9, p. e641–e651, 1 set. 2020.

KUMAR, S. K.; RAJKUMAR, S. V. The multiple myelomas — current concepts in cytogenetic classification and therapy. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 15, n. 7, p. 409–421, 23 jul. 2018.

KÜPPERS, R. The Genomic Landscape of HIV-Associated Plasmablastic Lymphoma. **Blood Cancer Discovery**, v. 1, n. 1, p. 23–25, jul. 2020.

LARCHER, C. *et al.* Expression of Epstein-Barr virus nuclear antigen-2 (EBNA2) induces CD21/CR2 on B and T cell lines and shedding of soluble CD21. **European Journal of Immunology**, v. 25, n. 6, p. 1713–1719, 17 jun. 1995.

LEBIEN, T. W. Fates of human B-cell precursors. **Blood**, v. 96, n. 1, p. 9–23, 1 jul. 2000.

LEBIEN, T. W.; THOMAS, *; TEDDER, F. B lymphocytes: how they develop and function. 2008.

LEJEUNE, D.; DEMOULIN, J. B.; RENAULD, J. C. Interleukin 9 induces expression of three cytokine signal inhibitors: cytokine-inducible SH2-containing protein, suppressor of cytokine signalling (SOCS)-2 and SOCS-3, but only SOCS-3 overexpression suppresses interleukin 9 signalling. **The Biochemical journal**, v. 353, n. Pt 1, p. 109–116, 1 jan. 2001.

LI, C. *et al.* EBNA2-deleted Epstein-Barr virus (EBV) isolate, P3HR1, causes Hodgkin-like lymphomas and diffuse large B cell lymphomas with type II and Wp-restricted latency types in humanized mice. **PLoS Pathogens**, v. 16, n. 6, 1 jun. 2020.

LI, J. W. *et al.* Plasmablastic lymphoma: current knowledge and future directions. **Frontiers in Immunology**, Frontiers Media SA, 2024a.

LI, J.-W. *et al.* Plasmablastic lymphoma: current knowledge and future directions. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 13 fev. 2024b.

LIU, Y. *et al.* Genetic Basis of Extramedullary Plasmablastic Transformation of Multiple Myeloma. **American Journal of Surgical Pathology**, v. 44, n. 6, p. 838–848, 1 jun. 2020a.

LIU, Z. *et al.* Genomic Characterization of HIV-Associated Plasmablastic Lymphoma Identifies Pervasive Mutations in the JAK–STAT Pathway. **Blood Cancer Discovery**, v. 1, n. 1, p. 112–125, jul. 2020b.

LIU, Z. *et al.* Genomic Characterization of HIV-Associated Plasmablastic Lymphoma Identifies Pervasive Mutations in the JAK–STAT Pathway. **Blood Cancer Discovery**, v. 1, n. 1, p. 112–125, jul. 2020c.

LOGHAVI, S. *et al.* Stage, age, and EBV status impact outcomes of plasmablastic lymphoma patients: A clinicopathologic analysis of 61 patients. **Journal of Hematology and Oncology**, v. 8, n. 1, 10 jun. 2015.

MEER, S.; PERNER, Y.; WILLEM, P. Oral versus extra-oral plasmablastic lymphoma: A comparative analysis of 101 cases. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 51, n. 2, p. 146–151, 1 fev. 2022.

MIAO, L. *et al.* High incidence of MYC rearrangement in human immunodeficiency virus-positive plasmablastic lymphoma. **Histopathology**, v. 76, n. 2, p. 201–211, 1 jan. 2020.

MONTES-MORENO, S. *et al.* Aggressive large B-cell lymphoma with plasma cell differentiation: Immunohistochemical characterization of plasmablastic lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma with partial plasmablastic phenotype. **Haematologica**, v. 95, n. 8, p. 1342–1349, 2010a.

MONTES-MORENO, S. *et al.* Aggressive large B-cell lymphoma with plasma cell differentiation: Immunohistochemical characterization of plasmablastic lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma with partial plasmablastic phenotype. **Haematologica**, v. 95, n. 8, p. 1342–1349, 2010b.

MONTES-MORENO, S. *et al.* Aggressive large B-cell lymphoma with plasma cell differentiation: Immunohistochemical characterization of plasmablastic lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma with partial plasmablastic phenotype. **Haematologica**, v. 95, n. 8, p. 1342–1349, 2010c.

MONTES-MORENO, S. *et al.* Plasmablastic lymphoma phenotype is determined by genetic alterations in MYC and PRDM1. **Modern Pathology**, v. 30, n. 1, p. 85–94, 1 jan. 2017a.

MONTES-MORENO, S. *et al.* Plasmablastic lymphoma phenotype is determined by genetic alterations in MYC and PRDM1. **Modern Pathology**, v. 30, n. 1, p. 85–94, 1 jan. 2017b.

NOVAK, N. *et al.* The immune privilege of the oral mucosa. **Trends in Molecular Medicine**, v. 14, n. 5, p. 191–198, maio 2008.

OTT, G. *et al.* Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. **Blood**, v. 116, n. 23, p. 4916–4925, 2 dez. 2010.

PASQUALUCCI, L.; DALLA-FAVERA, R. The Genetic Landscape of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. **Seminars in Hematology**, v. 52, n. 2, p. 67–76, 1 abr. 2015.

PATHER, S. *et al.* MYC status in HIV-associated plasmablastic lymphoma: dual-colour CISH, FISH and immunohistochemistry. **Histopathology**, v. 79, n. 1, p. 86–95, 1 jul. 2021.

PELAEZ-PRESTEL, H. F. *et al.* Immune Tolerance in the Oral Mucosa. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 22, 10 nov. 2021.

PHELAN, J. D.; OELLERICH, T. BCL10 Mutants: Architects of Oncogenic Signaling Provide a Blueprint for Precision Medicine. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 8, p. 1844–1846, 2022.

PINNIX, C. C. *et al.* Doxorubicin-Based Chemotherapy and Radiation Therapy Produces Favorable Outcomes in Limited-Stage Plasmablastic Lymphoma: A Single-Institution Review. **Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia**, v. 16, n. 3, p. 122–128, 1 mar. 2016.

PRATT, G. *et al.* Time to redefine Myeloma. **British Journal of Haematology**, v. 171, n. 1, p. 1–10, 27 out. 2015.

PTASIEWICZ, M. *et al.* Armed to the Teeth—The Oral Mucosa Immunity System and Microbiota. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 882, 14 jan. 2022.

QING, X. *et al.* Oral and Extraoral Plasmablastic Lymphoma: Similarities and Differences in Clinicopathologic Characteristics The Authors' Reply. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 135, n. 6, p. 977–979, 1 jun. 2011.

RAMBURAN, A.; KRIEL, R.; GOVENDER, D. Plasmablastic lymphomas show restricted EBV latency profile and MYC gene aberrations. **Leukemia and Lymphoma**, v. 63, n. 2, p. 370–376, 2022.

RAMIS-ZALDIVAR, J. E. *et al.* MAPK and JAK-STAT pathways dysregulation in plasmablastic lymphoma. **Haematologica**, v. 106, n. 10, p. 2682–2693, 1 out. 2021.

RIMSZA, L. M. *et al.* Kappa and lambda light chain mRNA in situ hybridization compared to flow cytometry and immunohistochemistry in B cell lymphomas. **Diagnostic Pathology**, v. 9, n. 1, 21 jul. 2014.

RODRIGUES-FERNANDES, C. I. *et al.* Clinicopathological analysis of oral plasmablastic lymphoma: A systematic review. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 47, n. 10, p. 915–922, 5 nov. 2018.

RODRIGUES-FERNANDES, C. I. *et al.* Clinicopathological analysis of oral diffuse large B-cell lymphoma, NOS: A systematic review. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 48, n. 3, p. 185–191, 1 mar. 2019.

ROWE, M. *et al.* Restoration of endogenous antigen processing in Burkitt's lymphoma cells by Epstein-Barr virus latent membrane protein-1: coordinate up-regulation of peptide transporters and HLA-class I antigen expression. **European Journal of Immunology**, v. 25, n. 5, p. 1374–1384, 17 maio 1995.

SCHUMACHER, J. A. *et al.* A novel approach to quantitating leukemia fusion transcripts by qRT-PCR without the need for standard curves. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 99, n. 1, p. 104–108, 1 ago. 2015.

SCOTT, D. W. *et al.* High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL2 and/or BCL6 rearrangements with diffuse large B-cell lymphoma morphology. **Blood**, v. 131, n. 18, p. 2060–2064, 3 maio 2018.

SEWASTIANIK, T. *et al.* MYC deregulation in lymphoid tumors: molecular mechanisms, clinical consequences and therapeutic implications. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1846, n. 2, p. 457–467, 1 dez. 2014.

SHI, D. *et al.* Clinicopathologic features and abnormal signaling pathways in plasmablastic lymphoma: a multicenter study in China. **BMC Medicine**, v. 20, n. 1, 1 dez. 2022.

SOCHALSKA, M. *et al.* MYC selects against reduced BCL2A1/A1 protein expression during B cell lymphomagenesis. **Oncogene**, v. 36, n. 15, p. 2066–2073, 1 abr. 2017.

SONG, S.; MATTHIAS, P. D. The Transcriptional Regulation of Germinal Center Formation. **Frontiers in Immunology**, v. 9, n. SEP, 5 set. 2018.

SUKSWAI, N. *et al.* Diffuse large B-cell lymphoma variants: an update. **Pathology**, v. 52, n. 1, p. 53–67, 1 jan. 2020.

TADDESSE-HEATH, L. *et al.* Plasmablastic lymphoma with MYC translocation: Evidence for a common pathway in the generation of plasmablastic features. **Modern Pathology**, v. 23, n. 7, p. 991–999, jul. 2010.

VEGA, F. *et al.* Plasmablastic lymphomas and plasmablastic plasma cell myelomas have nearly identical immunophenotypic profiles. **Modern Pathology**, v. 18, n. 6, p. 806–815, 2005.

VEGA, G. G. *et al.* P38 MAPK expression and activation predicts failure of response to CHOP in patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma. **BMC Cancer**, v. 15, n. 1, 16 out. 2015.

VIRDIS, P. *et al.* Tomentosin a sesquiterpene lactone induces antiproliferative and proapoptotic effects in human burkitt lymphoma by deregulation of anti-and proapoptotic genes. **Life**, v. 11, n. 11, 1 nov. 2021.

VOUREXAKIS, Z.; DULGUEROV, P. Extensive maxillofacial plasmablastic lymphoma in an immunocompetent patient. **BMJ Case Reports**, v. 2014, p. bcr2014204042, 7 ago. 2014.

WITTE, H. M. *et al.* Integrative genomic and transcriptomic analysis in plasmablastic lymphoma identifies disruption of key regulatory pathways. **Blood Advances**, v. 6, n. 2, p. 637–651, 25 jan. 2022.

XIA, M. *et al.* BCL10 Mutations Define Distinct Dependencies Guiding Precision Therapy for DLBCL. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 8, p. 1922–1941, 1 ago. 2022.

YE, B. H. *et al.* Alterations of a Zinc Finger-Encoding Gene, *BCL-6*, in Diffuse Large-Cell Lymphoma. **Science**, v. 262, n. 5134, p. 747–750, 29 out. 1993.

YORDANOVA, K. *et al.* Spontaneous regression of a plasmablastic lymphoma with *MYC* rearrangement. **British Journal of Haematology**, v. 186, n. 6, p. e203–e207, 1 set. 2019.

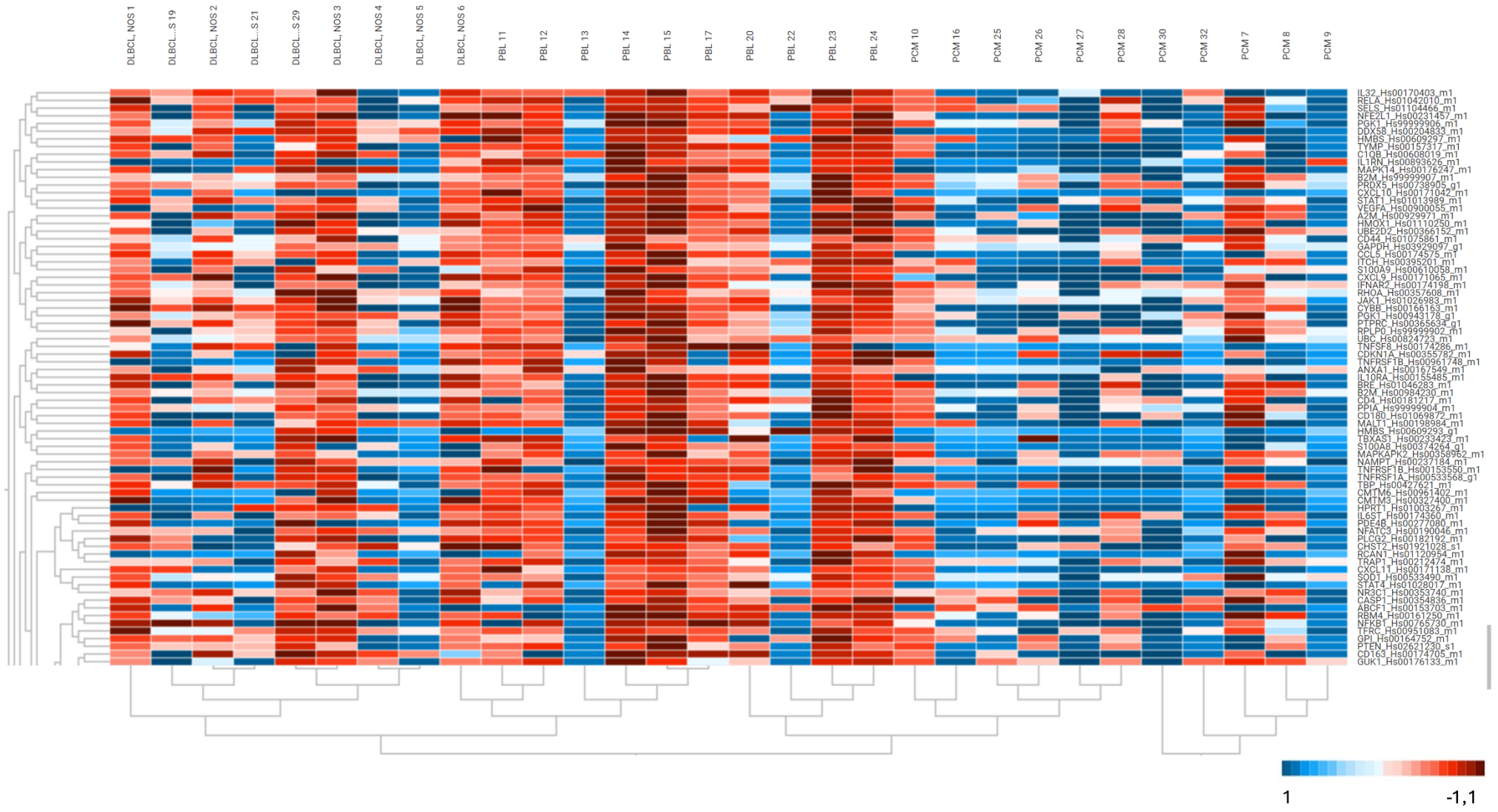
APÊNDICE A – Quantificação e Análise de Integridade

#ID	Amostra	Concentração (ng/μl)	Concentração pós diluição (ng/μl)	RNA-IQ	%SmallRNA	%LargeRNA
21	LDGCB-SOE	2179.5	747.3	6.3	0.37	0.63
19	LDGCB-SOE	1566.3	561.1	6.1	0.39	0.61
18	LDGCB-SOE	1402.2	445.3	5.8	0.42	0.58
31	LDGCB-SOE	1445.3	242	5.5	0.45	0.55
1	LDGCB-SOE	320	-	6.0	0.4	0.6
2	LDGCB-SOE	507.5	-	7.3	0.27	0.73
3	LDGCB-SOE	262.6	-	5.9	0.41	0.59
4	LDGCB-SOE	455	-	6.5	0.35	0.65
5	LDGCB-SOE	275.2	-	8.2	0.18	0.82
6	LDGCB-SOE	488.3	-	5.9	0.41	0.59
29	LDGCB-SOE	985.9	-	9.4	0.06	0.94
20	LPB	2347.2	718.9	6.1	0.39	0.61
22	LPB	2135.9	642.7	6.7	0.33	0.67
17	LPB	1833.7	421.2	5.7	0.43	0.57
23	LPB	1493.8	364.4	7.9	0.21	0.79
24	LPB	1066	272.9	8.2	0.18	0.82
13	LPB	806.7	-	7.3	0.27	0.73
11	LPB	386.8	-	5.8	0.42	0.58
12	LPB	548.9	-	6.5	0.35	0.65
14	LPB	968	-	8.0	0.2	0.8
15	LPB	829.9	-	8.7	0.13	0.87
30	PCN		475	5.2	0.48	0.52
25	PCN	1442.6	421.7	8.4	0.16	0.84
27	PCN	1387.2	394	5.6	0.44	0.56
26	PCN	359.1	-	9.2	0.08	0.92
28	PCN	993.9	-	7.7	0.23	0.77
16	PCN	2297	746.5	5.2	0.48	0.52
7	PCN	370	-	8.0	0.2	0.8
8	PCN	221.5	-	6.4	0.36	0.64
9	PCN	610.9	-	7.2	0.28	0.72
10	PCN	262.6	-	8.0	0.2	0.8
32	PCN	129.1	-	7.2	0.28	0.72

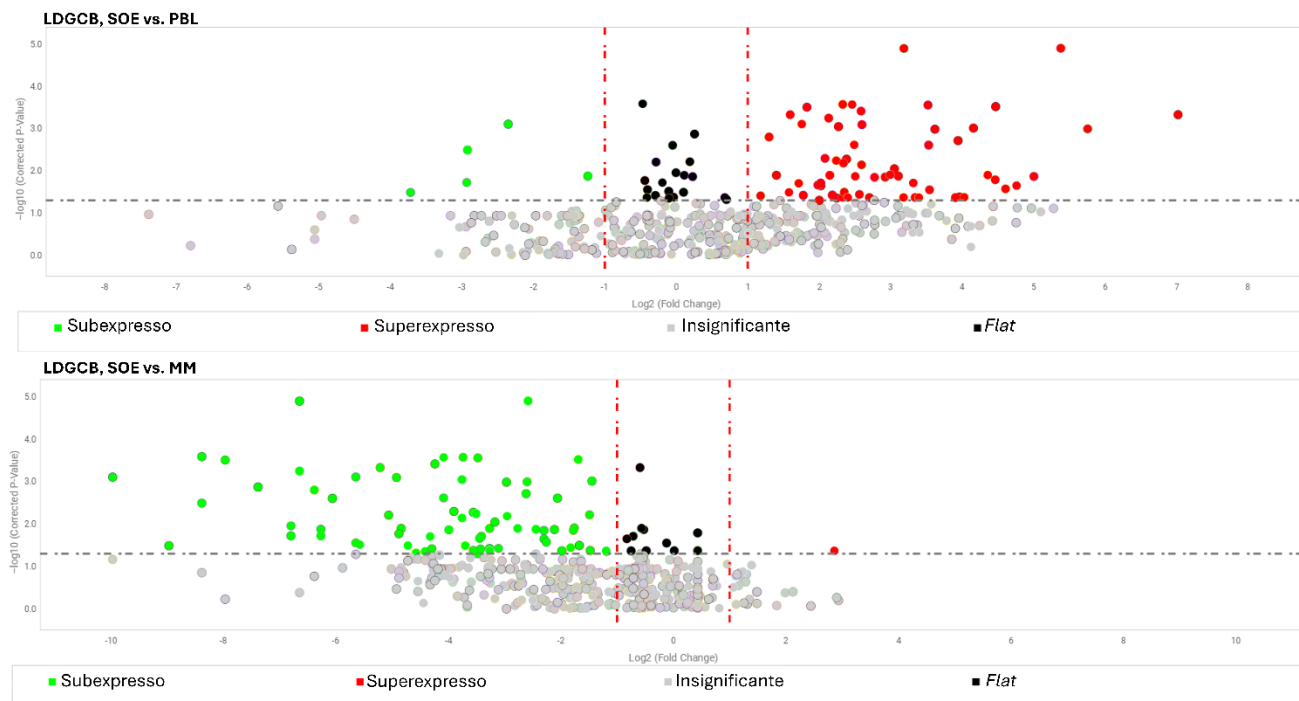
APÊNDICE B – Parâmetros de qualidade para amplificação dos alvos

Sinalizações de interferência	Acrônimo	Atributo	Condição	Threshold
Amplificação no controle negativo.	AMPNC	Score de amplificação	Menor que	35
Score de amplificação	AMPSCORE	Resultado ruim do algoritmo de referência passiva	Menor que	1.24
O sinal de referência passivo é anormal	BADROX	Confiança Cq	Maior que	0.6
A confiança calculada no valor Cq é baixa	CQCONF	C _T	Menor que	0.8
Detecção de delta Rn mínimo devido a uma linha de base anormal	DRNMIN	Desvio padrão do Cq	Menor que	35
O desvio padrão do Cq para o grupo de réplicas excede a configuração do sinalizador.	HIGHSD	Intensidade do ROX	Maior que	0.5
A mediana do sinal ROX (primeiros 5 ciclos) é menor que o limite.	LOWROX	-	Menor que	500
Coloca um ponto de corte no valor máximo de C _T no estudo.	MAXCT	ΔCq		40
ΔCq replicado fora do padrão em reações multiplex.	MPOUTLIER	Resultado do algoritmo de amplificação	Menor que	1
A amostra não se amplificou.	NOAMP	Ruído relativo	Menor que	0.3
O poço produziu mais ruído no gráfico de amplificação do que outros poços na placa.	NOISE	-	Maior que	4
Poços sem amostra atribuída.	NOSAMPLE	-		
O poço produziu fluorescência muito baixa ou nenhuma fluorescência.	NOSIGNAL	Coefficiente de variação da referência passiva	Menor que	100000
O sinal de referência passiva muda significativamente perto do Cq	PRFDROP	Sinal médio de referência passiva	Maior que	0.1
O sinal de referência passivo médio está abaixo do limite	PRFLOW	Resultado do algoritmo de pico	Menor que	50
O gráfico de amplificação contém um ou mais pontos de dados inconsistentes com os outros pontos do gráfico.	SPIKE	Pontuação AMP	Maior que	0.3
Detecção de amplitude relativa alta em comparação com outros poços	CRTAMPLITUDE			
Detecção de alto ruído relativo em comparação com outros poços	CRTNOISE			
A fluorescência excede o intervalo máximo detectável do instrumento em um ou mais ciclos.	OFFSCALE			
O Cq se desvia significativamente dos valores de Cq no grupo de réplicas associado.	OUTLIERRG			

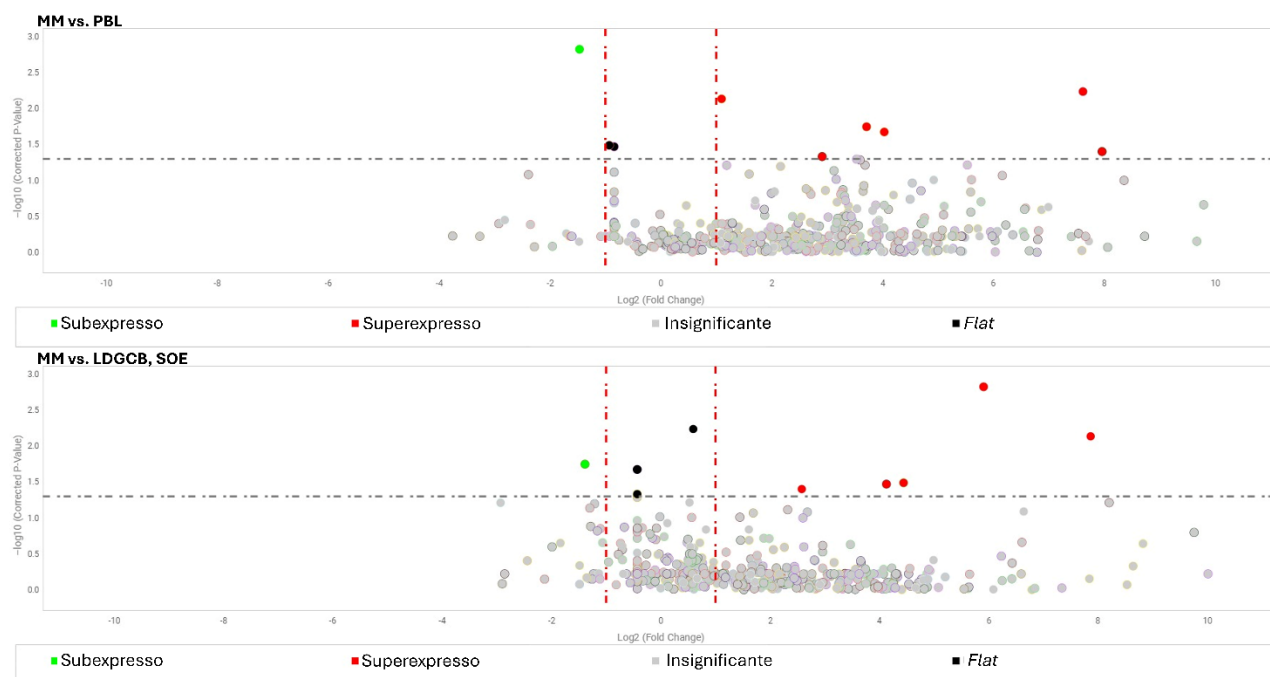
APÊNDICE C – Gráfico de mapa de calor



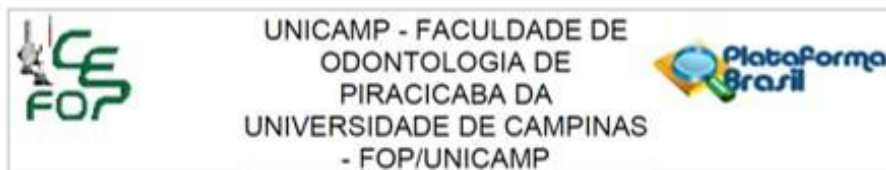
APÊNDICE D – Gráfico de vulcão – Referência: LDGCB-SOE



APÊNDICE E – Gráfico de vulcão – Referência: PCN



ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: ANÁLISE CLÍNICO-PATOLÓGICO E MOLECULAR DAS LESÕES LINFÓIDES REATIVAS E DOS LINFOMAS DA REGIÃO MAXILOFACIAL

Pesquisador: Felipe Paiva Fonseca

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 44647421.1.0000.5418

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.217.186

Apresentação do Projeto:

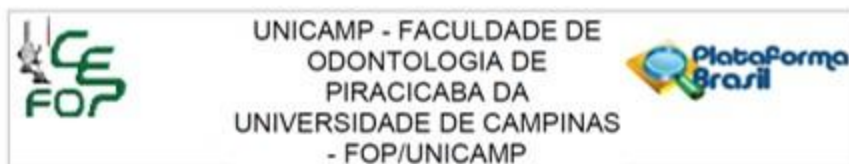
O parecer inicial é elaborado com base na transcrição editada do conteúdo do registro do protocolo na Plataforma Brasil e dos arquivos anexados à Plataforma Brasil. Os pareceres de retorno, emendas e notificações são elaborados a partir dos dados e arquivos da última versão apresentada.

Trata-se de SOLICITAÇÃO DE EMENDA (E1) AO PROTOCOLO originalmente aprovado em 23/04/2021 para inclusão de novo pesquisador. O parecer foi atualizado de acordo com a documentação apresentada. A solicitação está detalhadamente descrita ao final do parecer.

A EQUIPE DE PESQUISA citada na capa do projeto de pesquisa inclui, em ordem alfabética, exceto pesquisador responsável, FELIPE PAIVA FONSECA (Cirurgião-Dentista, Docente no PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP, Pesquisador responsável), ANA LUÍSA MORAIS PERDIGÃO (Graduanda no curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia da UFMG), CARLA ISABELLY RODRIGUES-FERNANDES (Cirurgiã-Dentista, Doutoranda no PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP), CINTHIA VERONICA BARDÁLEZ LÓPEZ DE CÁCERES (Cirurgiã-Dentista, Doutoranda no PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP), GLAUCE GUIMARÃES PEREIRA (Cirurgiã-Dentista, Doutoranda no PPG em Estomatopatologia da FOP-UNICAMP), HÉLDER ANTÔNIO REBELO PONTES (Cirurgião-Dentista, Docente na Universidade Federal do Pará, Docente no PPG em

Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 52
Bairro: Areião **CEP:** 13.414-903
UF: SP **Município:** PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 **Fax:** (19)2106-5349 **E-mail:** cep@fop.unicamp.br

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



Continuação do Parecer: 5.217.186

Biológico / Biorepositório / Biobanco	AutArqHUJBB.pdf	14/04/2021 16:03:01	Cáceres	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	AutArq2.pdf	17/03/2021 15:48:05	Cynthia Veronica Bardalez Lopez de Cáceres	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	AutArq.pdf	17/03/2021 15:47:51	Cynthia Veronica Bardalez Lopez de Cáceres	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declnst.pdf	17/03/2021 15:46:28	Cynthia Veronica Bardalez Lopez de Cáceres	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DecPesq.pdf	17/03/2021 15:46:09	Cynthia Veronica Bardalez Lopez de Cáceres	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.pdf	17/03/2021 15:45:26	Cynthia Veronica Bardalez Lopez de Cáceres	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRACICABA, 30 de Janeiro de 2022

Assinado por:
jacks jorge junior
(Coordenador(a))



Endereço: Av. Limeira 901 Caixa Postal 62
Bairro: Areião CEP: 13.414-903
UF: SP Município: PIRACICABA
Telefone: (19)2106-5349 Fax: (19)2106-5349 E-mail: cep@fop.unicamp.br

ANEXO B – Produção acadêmica no período do curso

Artigos completos publicados em periódicos

1.

LEITE-LIMA, FLÁVIA ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; DE CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Surgical management of conventional ameloblastoma: a retrospective cohort study over the past 21 years. ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY *JCR*, v. 29, p. 4, 2025. **Citações: SCOPUS 1**

 B1, ISSN 1865-1569, fonte [Qualis/CAPE5](#) (2017-2020) 



2.

MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA; BASTOS, VICTOR COUTINHO ; VITÓRIO, JESSICA GARDONE ; DUARTE-ANDRADE, FILIPE FIDELES ; PEREIRA, THAÍS DOS SANTOS FONTES ; LEITE-LIMA, FLÁVIA ; GOMES, THAÍS ELLEN CHAVES ; LEBRON, YURI ABNER RÓCHA ; MOREIRA, VICTOR REZENDE ; FRANÇA, MONIQUE SEDLMAIER ; SANTOS, LUCILAINE VALERIA DE SOUZA ; LANGE, LISETÉ CELINA ; MACEDO, ADRIANA NORI DE ; PICCOSSI, CAROLINA RAISSA COSTA ; PONTES, HELDER ANTONIO REBELO ; DINIZ, MARINA GONÇALVES ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI ; CASTRO, WAGNER HENRIQUES DE ; CANUTO, GISELE ANDRÉ BAPTISTA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; et.al . Malignant Transformed and Non-Transformed Oral Leukoplakias Are Metabolically Different. INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR SCIENCES *JCR*, v. 26, p. 1802, 2025.

 A2, ISSN 1422-0067, fonte [Qualis/CAPE5](#) (2017-2020) 



3.

DE LIMA CASTRO, FERNANDA LUIZA ARAÚJO ; TETZNER, ANA CRISTINA ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; DE CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Segmental Odontomaxillary Dysplasia: Unusual Tumoral Lesion. Head and Neck Pathology *JCR*, v. 19, p. 5, 2025.

 A1, ISSN 1936-0568, fonte [Qualis/CAPE5](#) (2017-2020) 

4.

MARTINS CHAVES, ROBERTA RAYRA; CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Growth rate per year of a soft tissue recurrent ameloblastoma. CLINICAL CASE REPORTS *JCR*, v. 12, p. e8444, 2024.

 B2, ISSN 2050-0904, fonte [Qualis/CAPE5](#) (2017-2020) 

5.




GUIMARÃES, NATHALIA SERNIZON ; JOVIANO-SANTOS, JULLIANE VASCONCELOS ; REIS, MARCELA GOMES ; **CHAVES, ROBERTA RAYRA MARTINS** ; OBSERVATORY OF EPIDEMIOLOGY, NUTRITION, HEALTH RESEARCH (OPENS) . Development of search strategies for systematic reviews in health using ChatGPT: a critical analysis. Journal of Translational Medicine *JCR*, v. 22, p. 1, 2024. **Citações:**

WEB OF SCIENCE™ 2 | SCOPUS 4

 A2, ISSN 1479-5876, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#)  

6.

CHRCANOVIC, B. R. ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; PONTES, H. A. R. ; GOMEZ, R. S. . Pyodermatitis-pyostomatitis vegetans: a case report and systematic review focusing on oral involvement. ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY *JCR*, p. 00, 2024. **Citações:** WEB OF SCIENCE™ 1

 B1, ISSN 1865-1569, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#)  

7.

MUNIZ, VINÍCIUS RIO VERDE MELO ; ALTEMANI, ALBINA ; FREITAS, VALERIA SOUZA ; PIRES, BRUNO CUNHA ; DE SANTANA, DANDARA ANDRADE ; COUTO, LARISSA ABBEUSEN ; CANGUSSU, MARIA CRISTINA TEIXEIRA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; DE SOUZA, SUZANA CATANHEDE ORSINE MACHADO ; VARGAS, PABLO AUGUSTIN ; CURY, PATRÍCIA RAMOS ; DE ARAUJO, IGUARACYRA BARRETO ; **CHAVES, ROBERTA RAYRA MARTINS** ; FONSECA, FELIPE PAIVA ; DOS SANTOS, JEAN NUNES . Chronic Sclerosing Sialadenitis of the Submandibular Gland and its Histopathological Spectrum in the IgG4-Related Disease: a Series of 17 Cases. Head and Neck Pathology *JCR*, v. 18, p. 42, 2024.

 A1, ISSN 1936-0568, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#)  

8.

LÓPEZ DE CÁCERES, CINTHIA VERONICA BARDÁLEZ ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; VARGAS, PABLO AGUSTIN ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; BURBANO, ROMMEL MARIO RODRÍGUEZ ; PONTES, HELDER ANTÔNIO REBELO ; FONSECA, FELIPE PAIVA . PLASMABLASTIC LYMPHOMA OF THE ORAL CAVITY: A CASE SERIES.. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology *JCR*, v. 137, p. e239, 2024.

 A2, ISSN 2212-4403, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#)  

9.

FREIRE-MAIA, BELINI ; DE SOUZA SILVA, GUILHERME ; DE MESQUITA, RICARDO ALVES ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . A spindle-cell variant of ameloblastic carcinoma arising from a pre-existing ameloblastoma. ORAL ONCOLOGY *JCR*, v. 150, p. 106704, 2024.

10.

LEGARREA, JUAN MANUEL ARTEAGA ; ALVES, HUMBERTO DE SOUZA ; **CHAVES, ROBERTA RAYRA MARTINS** ; SOARES, CIRO DANTAS ; ROBINSON, LIAM ; VAN HEERDEN, WILLIE F.P. ; DE ANDRADE, BRUNO AUGUSTO BENEVENUTO ; POLTI, LUCAS FABIAN ; DE SOUZA, SILVIA FERREIRA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; DE CACERES, CINTHIA VERONICA BARDALEZ LOPEZ ; VARGAS, PABLO AGUSTIN ; FONSECA, FELIPE PAIVA . Histiocytic sarcoma affecting the oral cavity: a clinical, pathologic and molecular study. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology *JCR*, v. 138, p. 543-555, 2024.

 A2, ISSN 2212-4403, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 



11.

GOMES, THAÍS ELLEN CHAVES ; BASTOS, VICTOR COUTINHO ; BONIEK, DOUGLAS ; ROMANACH, MARIO ; ROCHA, FERNANDA FARIA ; **CHAVES, ROBERTA RAYRA MARTINS** ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . A PCR-Based Approach for Early Diagnosis of Head and Neck Aspergillosis: A Pilot Study. Genes *JCR*, v. 15, p. 1428, 2024.

 A3, ISSN 2073-4425, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 



12.

MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA; AVELAR, MARIA CLARA MARTINS ; FERREIRA, ARTUR LUIZ DIAS ; DE ALMEIDA, ANGELICA PEREIRA ; GOMES, GABRIEL VASCONCELLOS SABIDO ; NEVES, PEDRO LOBO ALCÁNTARA ; FONSECA, FELIPE PAIVA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Striated Duct Adenoma: A Case Report and a Scoping Review. Head and Neck Pathology *JCR*, v. 18, p. 90, 2024.

 A1, ISSN 1936-0568, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 

13.

REIS, MARCELA GOMES ; LOPES, LUCAS CARVALHO ; SANCHES, ANA BEATRIZ AMARAL M. DE A. ; GUIMARAES, NATHALIA SERNIZON ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** . Diet and Oral Squamous Cell Carcinoma: A Scoping Review. International Journal of Environmental Research and Public Health *JCR*, v. 21, p. 1199, 2024.

 A1, ISSN 1660-4601, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 

14.



ZHANG, X. ; GLEBER-NETTO, F. O. ; WANG, S. ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; GOMEZ, R. S. ; VIGNESWARAN, N. ; SARKAR, A. ; WILLIAM JR, W. N. ; PAPADIMITRAKOPOULOU, V. ; LIPPMAN, S. M. ; WILLIAMS, M. ; BELL, D. ; HEYMACH, J. V. ; GILLENWATER, A. M. ; MYERS, J. N. ; FERRAROTTO, R. ; PICKERING, C. R. ; XIAO, G. . Deep learning-based pathology image analysis predicts cancer progression risk in patients with oral leukoplakia. *Cancer Medicine* **JCR**, v. 12, p. 7508-7518, 2023. **Citações:**

WEB OF SCIENCE 13 | SCOPUS 10

A3, ISSN 2045-7634, fonte Qualis/CAPEs (2017-2020)  



15.

LIMA, F. L. ; **MARTINS-CHAVES, R. R.** ; GOMEZ, R. S. ; CASTRO, W. H. . A conservative approach for unicystic ameloblastoma: retrospective clinic-pathologic analysis of 12 cases. *JOURNAL OF ORAL PATHOLOGY & MEDICINE (ONLINE)* **JCR**, v. -, p. -, 2023. **Citações:** WEB OF SCIENCE 5 | SCOPUS 4

A1, ISSN 1600-0714, fonte Qualis/CAPEs (2017-2020)  

16.

Guimarães, NS ; BRENNAN, P. A. ; GOMEZ, R. S. ; **MARTINS-CHAVES, R. R.** . Beyond the hype: A critical appraisal of the limitations and misconceptions of systematic reviews in the Oral pathology and medicine field. *JOURNAL OF ORAL PATHOLOGY & MEDICINE (ONLINE)* **JCR**, v. 52, p. 564, 2023.

A1, ISSN 1600-0714, fonte Qualis/CAPEs (2017-2020)  

17.

RODRIGUES-FERNANDES, CARLA ISABELLY ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; VITORIO, JESSICA GARDONE ; DUARTE-ANDRADE, FILIPE FIDELES ; PEREIRA, THAÍS DOS SANTOS FONTES ; SOARES, CIRO DANTAS ; MOREIRA, VÍCTOR REZENDE ; LEBRON, YURI ABNER ROCHA ; SANTOS, LUCILAINE VALÉRIA DE SOUZA ; LANGE, LISETE CELINA ; CANUTO, GISELE ANDRÉ BAPTISTA ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI ; DE MACEDO, ADRIANA NORI ; PONTES, HELDER ANTONIO REBELO ; BURBANO, ROMMEL MÁRIO RODRÍGUEZ ; MARTINS, MANOELA DOMINGUES ; PIRES, FABIO RAMOÁ ; MESQUITA, RICARDO ALVES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; SANTOS-SILVA, ALAN ROGER ; et.al . The altered metabolic pathways of diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified. *Leukemia & Lymphoma* **JCR**, v. 64, p. 1771-1781, 2023.

A4, ISSN 1029-2403, fonte Qualis/CAPEs (2020) via ISSN alternativo  



18.

FELIX, FERNANDA ARAGÃO ; GOMES, LUCAS TADEU FERREIRA ; FILLIU, FLÁVIA MARTINS VASCONCELLOS ; DE ALMEIDA ARAÚJO, STANLEY ; DA SILVA, TARCÍLIA APARECIDA ; DINIZ, MARINA GONCALVES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; DE SOUSA, SILVIA FERREIRA . Salivary glands of Sjögren's syndrome deserve more attention in -19 context. *Oral Diseases* **JCR**, v. 25, p. 14752, 2023.



19.

MARTINS'CHAVES, ROBERTA RAYRA; DINIZ, MARINA GONCALVES ; MIGUITA, LUCYENE ; FELIX, FERNANDA ARAGÃO ; RÓCHA, FERNANDA FARIA ; FONSECA, PAULA LUIZE CAMARGOS ; GEDDES, VICTOR EMMANUEL VIANA ; MENEZES, DIEGO ; MOREIRA, RENNAN GARCIAS ; LIBORIO'KIMURA, TATIANA ; CAMARA, JECONIAS ; DA COSTA MENDES, TASSIA CAROLINE ; PONTES, HELDER ANTONIO REBELO ; PONTES, FLAVIA SIROTHEAU CORREA ; DE FREITAS GONCALVES, THAYANNE OLIVEIRA ; FONSECA, THAMYRES CAMPOS ; ABRAHÃO, ALINE CORRÊA ; ROMANACH, MÁRIO JOSÉ ; ALVES, ANA PAULA NEGREIROS NUNES ; PEREIRA, KARUZA MARIA ALVES ; et.al . Can SARS-CoV -2 screening in oral biopsies aid epidemiological surveillance?. JOURNAL OF ORAL PATHOLOGY & MEDICINE (ONLINE)**JCR**, v. 52, p. 673-679, 2023. **Citações:** WEB OF SCIENCE* 1 | SCOPUS 1
 A1, ISSN 1600-0714, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 



20.

MIGUITA, LUCYENE ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; GÉDDES, VICTOR EMMANUEL VIANA ; MENDES, SUELLEN DA ROCHA ; COSTA, SARA FERREIRA DOS SANTOS ; FONSECA, PAULA LUIZE CAMARGOS ; MENEZES, DIEGO ; SOUZA, RAFAEL MARQUES DE ; QUEIROZ, DANIEL COSTA ; ALVES, HUGO JOSÉ ; FREITAS, RAPHAELA ALVARENGA BRAGA DE ; CRUZ, ALINE FERNANDA ; MOREIRA, RENNAN GARCIAS ; MOREIRA, FILIPE ROMERO REBELLO ; BEMQUERER, LARISSA MARQUES ; AGUILAR, DIEGO RODRIGUES DE ; SOUZA E SILVA, MARIA ELISA DE ; SAMPAIO, ALINE ARAUJO ; JARDILINO, FRANCISCA DANIELE MOREIRA ; SOUZA, LEANDRO NAPIER DE ; et.al . Biosafety in Dental Health Care During the COVID-19 Pandemic: A Longitudinal Study. Frontiers in Oral Health**JCR**, v. 3, p. 871107, 2022. **Citações:** WEB OF SCIENCE* 6 | SCOPUS 5
 C, ISSN 2673-4842, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 

21.

GUIMARÃES, LETÍCIA MARTINS ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; CHABOT, PRISCILA QUINTINO ; SCHREUDER, WILLEM H. ; DE CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI . A new TRPV4 mutation in a case of multiple central giant cell granulomas of the jaws. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology**JCR**, v. 135, p. e68-e73, 2022. **Citações:** WEB OF SCIENCE* 1 | SCOPUS 2
 A2, ISSN 2212-4403, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 

22.

CHRCANOVIC, BRUNO RAMOS ; **MARTINS'CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; PONTES, FLAVIA SIROTHEAU CORREA ; FONSECA, FELIPE PAIVA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO ; PONTES, HELDER ANTONIO REBELO . Comparison of survival outcomes between ameloblastic carcinoma and metastasizing ameloblastoma: A systematic review. JOURNAL OF ORAL PATHOLOGY & MEDICINE (ONLINE)**JCR**, v. 51, p. 603-610, 2022. **Citações:** WEB OF SCIENCE* 4 | SCOPUS 6
 A1, ISSN 1600-0714, fonte [Qualis/CAPES \(2017-2020\)](#) 

23.

LEITE LIMA, FLÁVIA ; BASTOS, VICTOR COUTINHO ; VITÓRIO, JESSICA GARDONE ; DUARTE ANDRADE, FILIPE FIDELES ; PEREIRA, THAIS DOS SANTOS FONTES ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; CRUZ, ALINE FERNANDA ; LACERDA, JULIO CESAR TANOS ; LEBRON, YURI ABNER ROCHA ; MOREIRA, VICTOR REZENDE ; SANTOS, LUCILAINE VALERIA DE SOUZA ; LANGE, LISETE CELINA ; MACEDO, ADRIANA NORI ; DINIZ, MARINA GONCALVES ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI ; CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; CANUTO, GISELE ANDRÉ BAPTISTA ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Unveiling metabolic changes in marsupialized odontogenic keratocyst: A pilot study. Oral Diseases **JCR**, v. -, p. Early view--, 2021. **Citações:** WEB OF SCIENCE™ 6 | SCOPUS 5

 A1, ISSN 1601-0825, fonte Qualis/CAPES (2020) via ISSN alternativo 


24.

BASTOS, VICTOR COUTINHO ; VITÓRIO, JESSICA GARDONE ; **MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA** ; LEITE LIMA, FLÁVIA ; LEBRON, YURI ABNER ROCHA ; MOREIRA, VICTOR REZENDE ; DUARTE ANDRADE, FILIPE FIDELES ; PEREIRA, THAIS DOS SANTOS FONTES ; SANTOS, LUCILAINE VALERIA DE SOUZA ; LANGE, LISETE CELINA ; MACEDO, ADRIANA NORI DE ; CANUTO, GISELE ANDRÉ BAPTISTA ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Age-Related Metabolic Pathways Changes in Dental Follicles: A Pilot Study. Frontiers in Oral Health **JCR**, v. 2, p. 1-31, 2021. **Citações:** WEB OF SCIENCE™ 5 | SCOPUS 6

 C, ISSN 2673-4842, fonte Qualis/CAPES (2017-2020) 

25.

MARTINS-CHAVES, ROBERTA RAYRA; COURA, BRUNA PIZZILO ; GOMES, CAROLINA CAVALIERI ; FONSECA, FELIPE PAIVA ; DE CASTRO, WAGNER HENRIQUES ; GOMEZ, RICARDO SANTIAGO . Unicystic adenoid ameloblastoma: A new variant?. Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology **JCR**, v. 134, p. e23-e28, 2021. **Citações:** WEB OF SCIENCE™ 3 | SCOPUS 3

 A2, ISSN 2212-4403, fonte Qualis/CAPES (2017-2020) 

Orientações concluídas

Dissertação de mestrado

1.

👤 Gabriel Vasconcellos Sabido Gomes. Análise do estado psicossocial e seus fatores relacionados de pacientes tratados de câncer de cabeça de cabeça e pescoço, 2023. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, . Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

2.

👤 Rudolf Moreira Pfeilsticker. Citopatologia bethesda i em punções aspirativas por agulha fina de nódulos tireoidianos: correlação com o aspecto ultrassonográfico, 2023. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, . Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

3.

Thaís Ellen Chaves Gomes. Uso da técnica do PCR para diagnóstico diferencial de mucormicose e aspergilose.. 2022. Dissertação (Mestrado em Medicina Molecular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais. Coorientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

Tese de doutorado

1.

Carla Isabelly Rodrigues-Fernandes. Perfil metabólico do linfoma difuso de grandes células B. 2021. Tese (Doutorado em Estomatopatologia) - Universidade Estadual de Campinas, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Coorientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

Iniciação científica

1.

MARINA HENRIQUES AMARAL. Perfil molecular do carcinoma epitelial-mioepitelial. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Medicina) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

2.

LOUYZZE VITÓRIA VIEIRA MEDRADO FERNANDES. Análise socioestrutural do câncer gastrointestinal. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Psicologia) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

3.

JULIA LAIS DE SA GOMES. Análise socioestrutural do câncer gastrointestinal. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Medicina) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

4.

MARIA CLARA MARTINS AVELAR. Comorbidades cardiovasculares nas neoplasias hematolinfoides. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Medicina) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

5.

ARTUR LUIZ DIAS FERREIRA. Comorbidades cardiovasculares nas neoplasias hematolinfoides. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Medicina) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

6.

PAULA VALENTE E SILVA. Perfil molecular do carcinoma epitelial-mioepitelial. 2023. Iniciação Científica. (Graduando em Medicina) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais, Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. Orientador: Roberta Rayra Martins Chaves.

Orientações em andamento

Orientações e supervisões em andamento

Dissertação de mestrado

1.

Guilherme Sedlmaier França. Estudo multicêntrico internacional de Radioterapia Espacialmente Fracionada (Lattice) para sarcomas de grandes volumes.. Início: 2024. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

2.

📍 Marcelo Portes Rocha Martins. Associação do perfil genético para estratificação do prognóstico dos pacientes com câncer de colorretal e a predição terapêutica como uma proposta para oncologia de precisão.. Início: 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

3.

Fernando Arbex Sabino. RELAÇÃO ENTRE A RIGIDEZ ARTERIAL E O CÂNCER DE TIREÓIDE APÓS A TIREOIDECTOMIA. Início: 2023. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

4.

📍 Fernando Costa Giffoni. Influência dos implantes dentários sobre o comprimento de telômeros e na expressão da transcriptase reversa da telomerase em células da mucosa oral. Início: 2023. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências

da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

5.

📍 Marcela Gomes Reis. Padrões dietéticos e carcinoma de células escamosas oral: Revisão sistemática. Início: 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

6.

📍 Monique Sedlmaier França. Detecção da mutação HRAS Q61R como ferramenta auxiliar para o diagnóstico do carcinoma epitelial-mioepitelial. Início: 2023. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

7.

LAURA DE FREITAS XAVIER, AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO DE TELOMEROS E EXPRESSÃO DA TRANSCRIPTASE REVERSA DA TELOMERASE EM AMOSTRAS TECIDUAIS PAREADAS E NÃO PAREADAS DE LIQUEN PLANO ORAL RETICULAR E DE LIQUEN PLANO EROSIV. Início: 2022. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

Iniciação científica**1.**

Amanda Foureaux Benfica. Identificação de Alvos Terapêuticos Imunobiológicos no Linfoma Plasmablastico: Análise de Vias de Sinalização e Expressão de Genes Inflamatórios. Início: 2024. Iniciação científica (Graduando em Medicina) - Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).

2.

Luana Esteves Santos. Identificação de Alvos Terapêuticos Imunobiológicos no Linfoma Plasmablastico: Análise de Vias de Sinalização e Expressão de Genes Inflamatórios. Início: 2023. Iniciação científica (Graduando em Medicina) - Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais. (Orientador).