



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA
MOLECULAR**

DANIELE DE ARAÚJO MOYSÉS

**IMPACTO DA DESREGULAÇÃO DA EXPRESSÃO NOS GENES
DA FAMÍLIA *ABCA* NO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

**BELÉM-PARÁ
AGOSTO/ 2023**

DANIELE DE ARAÚJO MOYSÉS

**IMPACTO DA DESREGULAÇÃO DA EXPRESSÃO NOS GENES
DA FAMÍLIA *ABCA* NO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da Universidade Federal do Pará (UFPA) como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Genética e Biologia Molecular.

Orientador: Prof. Dr. André Salim Khayat

BELÉM-PARÁ
AGOSTO/ 2023

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

M938i Moysés, Daniele de Araújo.
IMPACTO DA DESREGULAÇÃO DA EXPRESSÃO NOS
GENES DA FAMÍLIA ABCA NO ADENOCARCINOMA
GÁSTRICO / Daniele de Araújo Moysés. — 2023.
86 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. André Salim Khayat
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Genética e
Biologia Molecular, Belém, 2023.

1. Câncer Gástrico. 2. ABCA. 3. Neoadjuvância. 4.
Epstein-Barr. 5. H. pylori. I. Título.

CDD 576.5

DANIELE DE ARAÚJO MOYSÉS

Tese de doutorado intitulada "**IMPACTO DA DESREGULAÇÃO DA EXPRESSÃO NOS GENES DA FAMÍLIA ABCA NO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**" submetida ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular (PPGBM) da Universidade Federal do Pará (UFPA) como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. André Salim Khayat (UFPA/ICB) - Membro

Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Bahia (UFPA/ICB) - Membro

Profa. Dra. Bárbara do Nascimento Borges (UFPA/ICB) - Membro

Profa. Dra. Greice Lemos Cardoso (UFPA/ICB) - Membro

Prof. Dr. Fabiano Cordeiro Moreira (UFPA/NPO) - Membro

Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano (UFPA/ICB) - Suplente

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES E FONTES FINANCIADORAS

Universidade Federal do Pará - UFPA

Núcleo de Pesquisa em Oncologia – NPO

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES

AGRADECIMENTO

Gostaria de agradecer a Deus, pois foi muito difícil chegar até aqui, foram muitos momentos que pensei em desistir, dificuldades pessoais e problemas de saúde na família, como a doença cística nos rins da minha Mãe e a hemodiálise. Mas sempre tive esperança e as bênçãos de Deus em minha vida.

Agradeço a minha família, que apesar de não ter dimensão do que é um doutorado, sempre me apoiaram nos estudos e sempre entenderam quando não pude estar presente nas festas, fim de semana, feriados e reuniões da família, em especial a minha mãe Maria de Lourdes, pelo carinho.

Ao meu orientador professor Dr. André Salim Khayat, por aceitar me orientar, me acolher, por suas observações, sugestões, pela sua amizade, apoio nesta pesquisa e por me ensinar muitas coisas, contribuindo tanto no meu crescimento profissional quanto pessoal. Obrigada pela oportunidade.

A minha querida amiga Natasha Galucio, minha irmã de outra mãe que a pesquisa me deu, são mais de 10 anos de amizade e que dure pela vida toda. Agradeço pela ajuda, pelo carinho, amizade, atenção, conversas, força, brincadeiras e por fazer dos momentos difíceis suportáveis.

Ao meu amigo Eliel Barbosa pelo apoio prestado, sua ajuda, com suas riquíssimas sugestões, conselhos, pelo seu tempo, carinho e amizade. Graças a você "o dia está tão Eliel!".

Ao Prof. Dr. Fabiano Moreira pela paciência e parceria neste trabalho. Muito obrigada.

Ao Dr. Paulo Pimentel de Assumpção pela colaboração nesta pesquisa.

Aos amigos do NPO pelo acolhimento, amizade e ajuda, em especial a Profa Bruna Khayat, Taíssa Thomaz, Thaissa Rodrigues, Marcelli, Jéssica, Antônio.

Aos amigos Regianne Maciel, Valdicley Vale e Dona Regina Gama pela amizade e brincadeiras. E a todos os que de alguma forma contribuíram para meu aprendizado.

"Ainda que a figueira não floresça, nem haja fruto na vide; o produto da oliveira minta [...] todavia, eu me alegrarei no SENHOR, exultarei no Deus da minha salvação" (Habacuque 3:17-18).

RESUMO

O Câncer Gástrico (CG) é uma das principais causas mundiais de mortalidade relacionada ao câncer. O conhecimento do processo de carcinogênese, que inclui as modificações na expressão de genes, é fundamental para contribuir no prognóstico e condução terapêutica dos pacientes. Considerando a importância dos membros da família *ABCA* em pontos-chaves da terapêutica do CG, este estudo visou avaliar o perfil de expressão gênica desta família de transportadores, correlacionando com as características clínicas e com a expressão de outros genes comumente desregulados no CG, em amostras de tecido adjacente e de CG. Desta forma, por meio de experimento de RNA-Seq foram analisadas as expressões diferenciais de todos os genes da família *ABCA*, entre tecidos adjacentes e de CG, associando aos aspectos clínicos dos pacientes, tais como a abordagem terapêutica e infecção por *H. pylori* e por *Epstein-Barr (EBV)*. Também foram avaliadas nas amostras de câncer classificação de Laurén (intestinal ou difuso) e o estadiamento (I, II, III e IV). Foi observado que o *ABCA1* apresentou alta expressão em CG, correlação positiva com a expressão dos genes *CTSL*, *CTSK* e *GJA1* e correlação negativa com os genes *TEPP*, *GAGE1*, *VNIR7P*, *RNA5SP389*, adicionalmente se apresenta hiperexpresso em amostras *EBV* positivas, e baixa expressão em amostras positivas para *H. pylori*. Por outro lado, os genes *ABCA6*, *ABCA8* e *ABCA9* apresentaram baixa expressão em CG. Vale ressaltar que *ABCA8* apresentou aumento da expressão após terapia com FLOT (docetaxel, oxaliplatina, 5-fluorouracil e leucovorin), além disso, *ABCA8* apresentou correlação negativa com o gene *S100A3* e positiva com o *ABCA6*. Já o *ABCA9* apresentou expressão correlacionada com *GAGE1*, *ABCA13*, *VNIR7P*, *MTND5P7*, *MTND5P13* e negativamente correlação com *CTSL* e *ABCA1*. Polimorfismos nestes genes (rs2066714 e rs2230806 do *ABCA1*, rs7212506 do *ABCA6*, rs2886232 do *ABCA10*, rs2274412 do *ABCA12*) foram também associados a aspectos clínicos relevantes, tal como sobrevida. Desta forma, os resultados indicam que os genes *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* e *ABCA9* apresentam relevância para a compreensão da gênese, progressão e resposta terapêutica no câncer gástrico.

Palavras - Chaves: Câncer Gástrico; *ABCA*; Neoadjuvância; FLOT; *H. pylori*; *Epstein-Barr*.

ABSTRACT

Gastric cancer (GC) is one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide. Knowledge of the carcinogenesis process, which includes changes in gene expression, is essential to contribute to the prognosis and therapeutic management of patients. Considering the importance of members of the ABCA family in key points of GC therapy, this study aimed to evaluate the gene expression profile of this transporter family, correlating it with clinical characteristics and with the expression of other genes commonly deregulated in GC, in samples adjacent tissues and GC. Therefore, an RNA-Seq experiment was performed to analyze the differential expression of all genes of the ABCA family, between adjacent tissues and GC, and to correlate them with clinical aspects of the patients, such as therapeutic approach and infection by *H. pylori* and by Epstein-Barr (EBV). Laurén classification (intestinal or diffuse) and staging (I, II, III and IV) were also evaluated in the cancer samples. *ABCA1* was found to be highly expressed in GC, positively correlated with the expression of the *CTSL*, *CTSK* and *GJA1* genes and negatively correlated with the *TEPP*, *GAGE1*, *VNIR7P*, *RNA5SP389* genes, hyperexpressed in EBV positive samples and low expression in *H. pylori* positive samples. On the other hand, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* genes showed low expression in GC. Notably, *ABCA8* showed increased expression after FLOT (docetaxel, oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin) therapy, and *ABCA8* showed negative correlation with *SI00A3* gene and positive correlation with *ABCA6*. *ABCA9* showed an expression correlated with *GAGE1*, *ABCA13*, *VNIR7P*, *MTND5P7*, *MTND5P13* and negatively correlated with *CTSL* and *ABCA1*. Polymorphisms in these genes (*ABCA1* rs2066714 and rs2230806, *ABCA6* rs7212506, *ABCA10* rs2886232, *ABCA12* rs2274412) have also been associated with clinically relevant aspects such as survival. Thus, the results indicate that *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* genes are relevant for understanding the genesis, progression and therapeutic response in gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer; ABCA; Neoadjuvant; FLOT; *H. pylori*; Epstein-Barr.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	10
1.1 CÂNCER GÁSTRICO.....	10
1.2 FAMÍLIA <i>ABCA</i>	13
1.2.1 <i>ABCA1</i>	17
1.2.2 <i>ABCA2</i>	19
1.2.3 <i>ABCA3</i>	20
1.2.4 <i>ABCA4</i>	20
1.2.5 <i>ABCA5</i>	21
1.2.6 <i>ABCA6</i>	21
1.2.7 <i>ABCA7</i>	22
1.2.8 <i>ABCA8</i>	22
1.2.9 <i>ABCA9</i>	23
1.2.10 <i>ABCA10</i>	24
1.2.11 <i>ABCA12</i>	24
1.2.12 <i>ABCA13</i>	24
1.3 RNA-Seq: uma ferramenta poderosa para avaliar genes desregulados em Câncer Gástrico	26
2 OBJETIVOS	29
2.1 OBJETIVO GERAL	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3 CAPÍTULO I	30
4 DISCUSSÃO	60
REFERÊNCIAS	68

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER GÁSTRICO

O câncer gástrico (CG) é uma das principais causas de mortalidade relacionada ao câncer em todo o mundo, apresentando-se como o quarto tipo de câncer com maior taxa (Sung et al., 2021). No Brasil ocorreram 13.850 óbitos por CG no ano de 2020, ocupando assim a quinta posição dos tipos de câncer, sem considerar os tumores de pele não melanoma. Estima-se para cada ano do triênio 2023 a 2025, mais de 21.480 casos, com incidência quase duas vezes maior para o sexo masculino em relação ao feminino. Na região Norte do Brasil é o segundo tipo mais frequente em homens (12,55 por 100 mil) e o quinto em mulheres (6,53 por 100 mil) (INCA, 2022).

O câncer gástrico mais frequente é o tipo adenocarcinoma, uma neoplasia originada na camada mucosa, correspondendo a mais de 95% dos tipos de câncer diagnosticados (Ajani et al., 2022; Thrift; El-Serag, 2020). Quanto à classificação histológica podem ser classificados de acordo com Laurén em tipos intestinal e difuso, os quais exibem uma série de características clínicas e moleculares distintas, incluindo histogênese, diferenciação celular, epidemiologia, etiologia, carcinogênese, comportamentos biológicos e prognóstico (Ma et al., 2016).

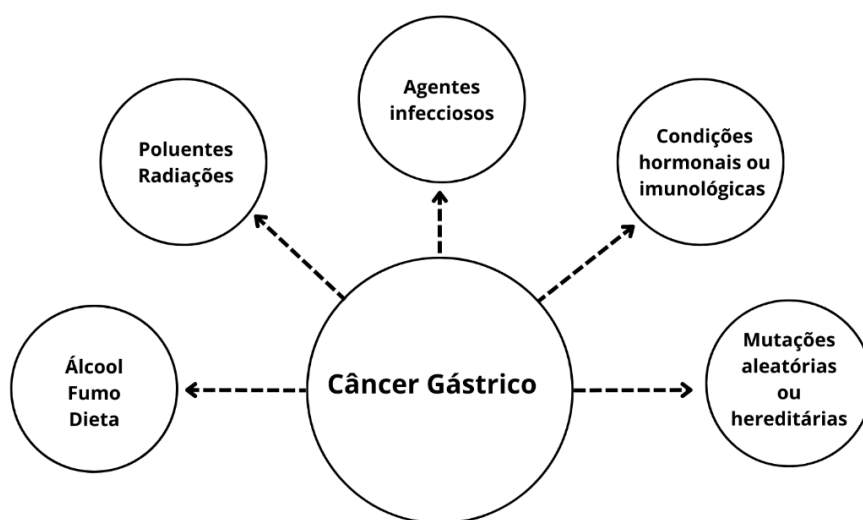
No tipo intestinal, as células tumorais apresentam adesão, estão dispostas em formações tubulares ou glandulares, podem estar frequentemente associadas às lesões pré-neoplásicas e apresenta melhor prognóstico quando comparado ao tipo difuso, sendo mais frequente em homens e pacientes idosos. Já no tipo difuso, as células tumorais não têm adesão e se infiltram no estroma como células únicas ou pequenos subgrupos, levando a uma população de células tumorais dispersas e não coesas, estando associado a pacientes com idade mais jovem, mais frequente no sexo feminino e pior prognóstico quando comparado ao tipo intestinal (Laurén, 1965; Qiu et al., 2013).

Os tratamentos atuais do câncer incluem intervenção cirúrgica, radioterapia e uso de drogas quimioterápicas, que muitas vezes, infelizmente, matam também as células saudáveis e resultam em toxicidade para os pacientes. Adicionalmente, a cirurgia é o melhor método de tratamento, especialmente quando o diagnóstico é feito precocemente, no entanto, existem casos em que o CG está avançado demais ou o paciente não está apto para a cirurgia, o que requer outros tipos de tratamento. Nesses casos, embora a quimioterapia e a radioterapia sejam opções eficazes, também podem causar efeitos

colaterais. Além disso, a ocorrência de metástases e recidivas, principalmente relacionadas ao diagnóstico tardio (Johnston; Beckman, 2019; Xue et al., 2022) é outro fator agravante na sobrevida dos pacientes.

A quimioterapia ainda apresenta alguns desafios, como quimiorresistência e inespecificidade (Portenoy; Ahmed, 2018). Além disso, uma importante complicação relacionada ao prognóstico para pacientes com CG é a falta de biomarcadores confiáveis para prever a quimiossensibilidade e possível recorrência (Rezaei et al., 2022).

Por se tratar de uma doença multifatorial, diversos fatores estão associados a carcinogênese gástrica que podem ocasionar a transformação do fenótipo celular normal para um fenótipo maligno, como fatores extrínsecos relacionados ao consumo de álcool, fumo, dieta, poluentes, radiações, agentes infecciosos, especialmente a infecção pelo vírus *Epstein-Barr (EBV)* e pela *Helicobacter pylori* e os fatores intrínsecos como mutações aleatórias ou hereditárias, condições hormonais ou imunológicas (Figura 1) (Hinozaki-Ushiku; Kunita; Fukayama, 2015; American Cancer Society, 2018; Yusefi et al., 2018; Usui et al., 2023).



www.reallygreatsite.com

hello@reallygreatsite.com

Figura 1. Fatores que favorecem a carcinogênese gástrica. **Fonte:** Autoria própria, 2023.

A heterogeneidade tumoral é o principal obstáculo no caminho de um tratamento eficaz contra o câncer (Zaimy et al., 2017). A alteração da expressão gênica pode ser o ponto inicial para o desenvolvimento de diferentes tipos de cânceres, o que pode levar a desregulação dos proto-oncogenes, genes supressores de tumor, genes de reparo de DNA,

moléculas de adesão celular, fatores de crescimento, instabilidade de microssatélites (MSI) por meio de mecanismos de silenciamento dos genes por hipermetilação do DNA, mutações ou amplificação gênica. Essas alterações favorecem a proliferação celular descontrolada, além de poder contribuir com a progressão do câncer e seu agravamento por meio de invasão e metástase (Verma et al., 2014; Calcagno et al., 2013; Cho et al., 2013; Kang, 2014; Busuttill et al., 2014; Krøigård et al., 2018; Oue et al., 2019).

Nesse sentido, há necessidade do desenvolvimento de novos estudos que possam identificar características genéticas peculiares do tumor, que contribua para o entendimento do comportamento desta neoplasia, além de permitir a elaboração de novas formas de diagnóstico e avaliação prognóstica, podendo assim colaborar no estabelecimento de condutas terapêuticas mais precisas (Assumpção; Burbano, 2005).

Um biomarcador é definido como uma característica mensurável que pode ser utilizada como indicadora de processos biológicos normais, de processos patogênicos e de respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica específica (Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Biomarcadores podem ser determinados a partir da análise de material genético e proteínas de diversos materiais biológicos, por exemplo, de fluidos corporais facilmente obtidos, tais como plasma, soro e urina, assim como de tecidos (Oldenhuis et al., 2008).

Os biomarcadores tumorais são moléculas biológicas que sugerem a presença de câncer em um paciente ou caracterizam tumores já diagnosticados e que podem ser produzidas pelo próprio tumor ou pelo corpo em resposta ao tumor (Shaw et al., 2015). Podem ser subcategorizados em biomarcadores de diagnóstico (que determinam a presença de um tipo de câncer), de prognóstico (que geram informações sobre os efeitos das características do paciente ou do tumor no seu quadro clínico) e preditivos (que ajudam na identificação do tratamento mais adequado para o paciente, levando em consideração suas peculiaridades genéticas) (Italiano, 2011; Madu; Lu, 2010; Oldenhuis et al., 2008).

Assim, a utilização de biomarcadores para a classificação tumoral permite que pacientes com o mesmo tipo tumoral, localização e comorbidades recebam uma estimativa individualizada de prognóstico e tratamento, levando em consideração o perfil molecular de seus tumores (Shaw et al., 2015). Dessa forma, algumas evidências

destacam o valor potencial dos membros da *ABCA* para serem usados como potenciais biomarcadores de risco e de resposta em diferentes tumores (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

1.2 FAMÍLIA *ABCA*

Os transportadores de cassete de ligação de trifosfato de adenosina (ATP) (*ABC*) são uma superfamília de 48 membros de proteínas de membrana que transportam ativamente uma variedade de substratos biológicos através das membranas lipídicas. Sua diversidade funcional define um envolvimento expansivo em uma miríade de aspectos da biologia humana (Moore et al., 2023), pois desempenham um papel crítico na proteção de órgãos vitais, como cérebro e placenta, contra xenobióticos, bem como na modulação do perfil farmacológico e toxicológico de vários candidatos a medicamentos, restringindo sua penetração por meio de barreiras celulares e teciduais (Nwabufo, 2022).

As proteínas *ABCA* incluem os membros envolvidos em processos relacionados à homeostase do colesterol e ao transporte de várias substâncias, como por exemplo, seus derivados: xenobióticos, vitaminas e diversos lipídios para dentro e para fora das células e organelas, podendo participar de estresse oxidativo, reconhecimento imunológico e efluxo de drogas (Lee et al., 2013; Yang et al., 2022).

Essas proteínas são codificadas pelos genes *ABCA*, constituídos de 12 membros denominados *ABCA1* a *ABCA13*, que são divididos em dois subgrupos de acordo com sua localização cromossômica e análise filogenética. O primeiro subgrupo é formado por cinco genes, *ABCA5* (17q24.3), *A6* (17q24.3), *A8* (17q24), *A9* (17q24.2) e *A10* (17q24), que estão localizados em um cluster no cromossomo humano 17, enquanto que o outro, inclui os membros *ABCA1* (9q31.1), *A2* (9q34), *A3* (16p13.3), *A4* (1p22), *A7* (19p13.3), *A12* (2q34) e *A13* (7p12.3) que estão presentes em outros seis cromossomos diferentes (Vasiliou; Vasiliou; Nebert, 2008; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

As proteínas compartilham uma estrutura geral (Figura 2), apresentando dois domínios extracelulares (ECD1 e ECD2) que formam um túnel hidrofóbico. Dois domínios transmembranares (TMD1 e TMD2) hidrofóbicos formando um poro na membrana (atravessando-a) e determinam quais ligantes podem ser reconhecidos. Dois domínios de ligação a nucleotídeos (NBD1 e NBD2) que se ligam e hidrolisam o ATP

relacionados a um domínio de loop altamente hidrofóbico intermediário. Esta estrutura encontra-se dentro do compartimento citosólico, constituído por um motivo de assinatura ABC (uma região curta e conservada de uma proteína), os domínios Walker A ou loop P (uma alça de ligação de fosfato) que liga os fosfatos alfa e beta do ATP, e o domínio Walker B que fornece o resíduo catalítico de glutamato, e resíduo de aspartato para coordenar o íon Mg^{2+} , favorecendo a hidrólise de ligação do ATP (Alam; Locher, 2023; Davis; Tew, 2018).

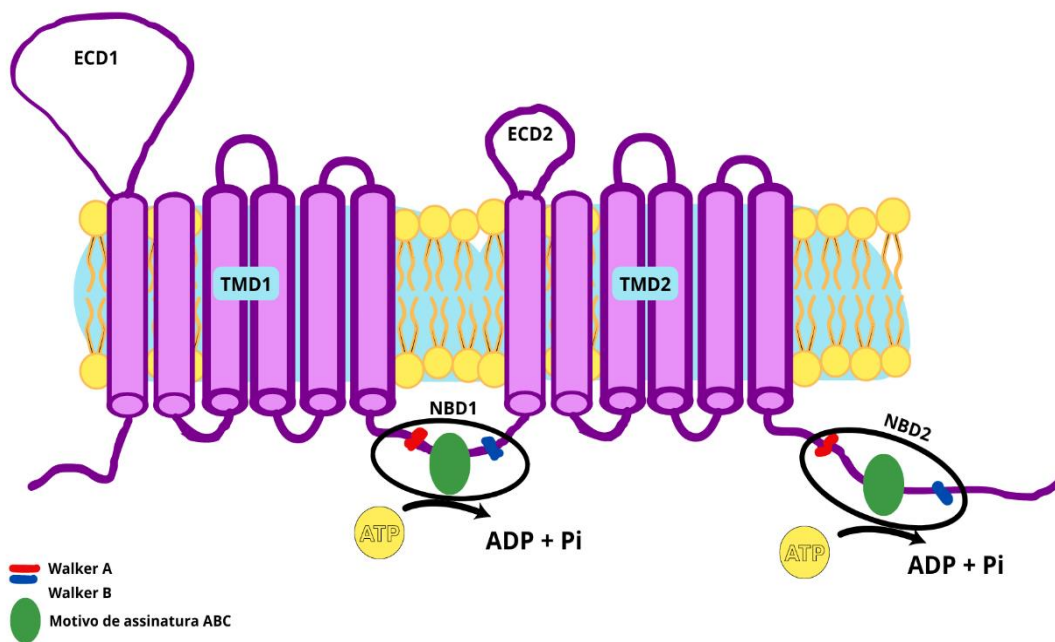


Figura 2. Estrutura comum das proteínas ABCA na membrana plasmática. **Legenda:** Os transportadores ABCA são compostos por dois grandes domínios extracelulares (ECD1 e ECD2), dois domínios transmembranares hidrofóbicos (TMD1 e TMD2) e dois domínios de ligação a nucleotídeos (NBD1 e NBD2) que se ligam ao ATP. Os NBD's são formados por domínios Walker A e B e o motivo de assinatura ABC. **Fonte:** Autoria própria, 2023.

Notadamente, a expressão elevada de transportadores da família *ABCA* é um fator que resulta em resistência a múltiplas drogas (MDR), visto que esses transportadores podem reconhecer e mediar o transporte de diversas drogas em células neoplásicas, e assim, influenciar na concentração intracelular de drogas prejudicando a resposta à quimioterapia (Györfy et al., 2006; Xiao et al., 2021).

Outro comportamento importante de transportadores da família ABCA, que pode provocar a quimiorresistência e favorecer a progressão tumoral, são alterações como diminuição da permeabilidade, resposta imunológica, distúrbios nas vias de sinalização e mudanças na saturação lipídica (Szlasa et al., 2020). Isso pode estar relacionado com o metabolismo lipídico, importante para obtenção de energia. Além disso, o colesterol, uma das principais substância que participa da homeostase lipídica, é um componente para membranas biológicas e de moléculas de sinalização, que pode influenciar na proliferação, sobrevivência, invasão, metástase, resposta ao impacto do microambiente tumoral e à terapia do câncer (Bian et al., 2021).

Nesse sentido, vários genes da família ABCA apresentaram sua expressão desregulada em diversos tipos de câncer (Tabela 1) o que pode contribuir com a alteração da atividade ou comportamento das proteínas ABCA.

Tabela 1. Perfil da expressão dos genes da família ABCA desregulados em diversos tipos de câncer.

Estudo	Gene	Tipo de Câncer	Expressão	Atividade
Lee et al., 2013; Cerami et al., 2012; Demidenko et al., 2015	<i>ABCA1</i> , <i>ABCA8</i>	Câncer de próstata	Diminuída	Colesterol alto intracelular está correlacionado com desenvolvimento de tumores;
Fukuchi et al., 2004; Sekine et al., 2010; Ile et al., 2004; Karatas et al., 2016	<i>ABCA1</i> , <i>ABCA2</i> , <i>ABCA5</i>	Câncer de próstata	Aumentada	Maior capacidade de crescimento e migração; Desregulação da homeostase lipídica; Quimiorresistência;
Moon et al., 2019	<i>ABCA1</i>	Modelo murino de câncer de fígado	Diminuída	Atividade supressora de tumor;
Gong, et al., 2022; Guo et al., 2020; Xie et al., 2023 Yin et al., 2021;	<i>ABCA6</i> , <i>ABCA8</i>	Adenocarcinoma gástrico	Diminuída	Bom prognóstico (<i>ABCA6</i>); Mau prognóstico (ambos)
Liu et al., 2023; Deng et al., 2022; Xue et al., 2022; Ding et al., 2020	<i>ABCA1</i> , <i>ABCA8</i>	Adenocarcinoma gástrico	Aumentada	Aumento da invasão celular; Quimiorresistência; Diminuição da sobrevivência global; Mau prognóstico
Hlavac et al., 2013	<i>ABCA5</i> , <i>ABCA6</i> , <i>ABCA8</i> , <i>ABCA9</i>	Câncer de mama	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Pan et al., 2019; Nieva et al., 2012; Zhao et al., 2016; Hlavac et al., 2013; Dvorak et al., 2017	<i>ABCA1</i> , <i>ABCA2</i> , <i>ABCA3</i> , <i>ABCA7</i> , <i>ABCA12</i> , <i>ABCA13</i>	Câncer de mama	Aumentada	Biomarcador; Quimiorresistência; Metástase; Maior risco de recorrência; Desregulação da homeostase lipídica;

Dvorak et al., 2017; Bu et al., 2022; Hlavata et al., 2012;	<i>ABCA2</i> , <i>ABCA7</i> , <i>ABCA9</i> , <i>ABCA10</i>	Câncer de colorretal	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica; Mau prognóstico;
Aguirre-Portoles et al., 2018; Fernández et al., 2017; Dvorak et al., 2017; Hlavata et al., 2012	<i>ABCA1</i> ; <i>ABCA6</i> , <i>ABCA8</i> , <i>ABCA12</i> , <i>ABCA13</i>	Câncer de colorretal	Aumentada	Aumento da invasão celular; Maior risco de recorrência;
Heimerl et al., 2007	<i>ABCA7</i> , <i>ABCA12</i>	Melanoma	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Bachmeier et al., 2009	<i>ABCA1</i>	Melanoma	Aumentada	Quimiorresistência;
Liu et al., 2015	<i>ABCA8</i>	Câncer de ovário	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Hedditch et al., 2014; Park et al., 2006; Elsnerova et al., 2017; Wang et al., 2021; Laing et al., 1998; Nymoer et al., 2015	<i>ABCA1</i> , <i>ABCA2</i> , <i>ABCA4</i> , <i>ABCA5</i> , <i>ABCA6</i> , <i>ABCA7</i> , <i>ABCA8</i> , <i>ABCA9</i> , <i>ABCA10</i> , <i>ABCA13</i>	Câncer de ovário	Aumentada	Maior capacidade de crescimento e migração; Quimiorresistência; Melhor resposta quimioterápica (<i>ABCA4</i>)
Prochazka et al., 2013	<i>ABCA1</i>	Câncer de pulmão	Aumentada	Quimiorresistência;
Efferth et al., 2006; Marzac et al., 2011; Yasui et al., 2004; Steinbach et al., 2006; Chapuy et al., 2008	<i>ABCA2</i> , <i>ABCA3</i>	Leucemia	Aumentada	Quimiorresistência;
Gotovdorj et al., 2014	<i>ABCA2</i> , <i>ABCA3</i>	Câncer astroglioma CRT-MG	Aumentada	Desregulação da homeostase lipídica;
Saini et al., 2012	<i>ABCA5</i>	Osteossarcoma metastático para o pulmão	Aumentada	Desregulação da homeostase lipídica;
Mohelnikova-Duchonova et al., 2013	<i>ABCA6</i>	Pancreático	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Cui et al., 2020;	<i>ABCA8</i>	Carcinoma hepatocelular	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Ye et al., 2008	<i>ABCA8</i>	Carcinoma de células escamosas da língua	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;
Arai et al., 2014	<i>ABCA13</i>	Carcinomas de células renais de células claras	Diminuída	Desregulação da homeostase lipídica;

Fonte: Autoria própria, 2023.

Os papéis específicos desses transportadores ABCA em tumores são multifacetados e suas associações com a malignidade são mais complexas do que aquelas relatadas para outros membros da família do ABC que medeiam a resistência a múltiplas drogas. Achados mais recentes indicam contribuição adicional desses transportadores para outros processos, como disseminação de células tumorais e metástase, estendendo assim seus possíveis papéis na progressão tumoral (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

Além disso, várias doenças também apresentam os genes dessa família desregulados sob influência de proteínas, hipermetilação e alguns miR, que podem induzir regulação positiva ou negativa, alguns exemplos são apresentados nos próximos tópicos sobre a família ABCA.

1.2.1 ABCA1

A proteína ABCA1 (Figura 3) apresenta 2.261 aminoácidos e massa molecular de 254 kDa. Está presente no retículo endoplasmático, aparelho de golgi, membrana plasmática, vesícula endocítica e fagocítica, endossomos (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

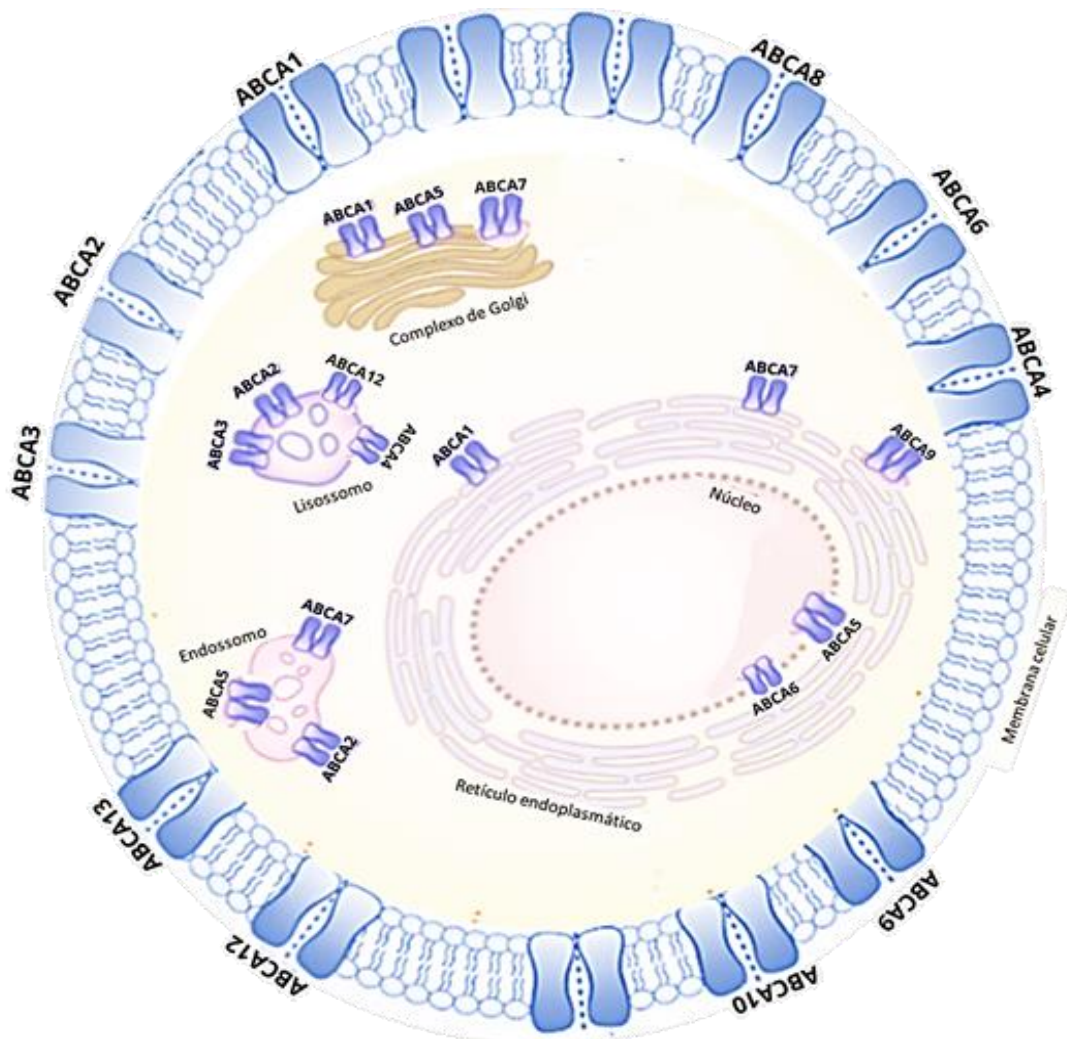


Figura 3. Localização celular das proteínas ABCA. **Fonte:** Autoria própria, 2023.

Suas funções estão relacionadas à ligação da apolipoproteína, à ligação e transporte de colesterol, à catalisação da translocação de fosfolípidos específicos do citoplasma para o folheto extracelular/luminal da membrana acoplada à hidrólise de ATP. Participa da transferência de fosfolípidos para apolipoproteínas para formar lipoproteínas/HDLs de alta densidade, ligação de syntaxina (uma proteína envolvida na exocitose), participa da via de sinalização do receptor acoplado à proteína G ativadora da adenilato ciclase, resposta celular ao ácido retinóico. Além disso, transporta fosfatidilcolina, fosfatidilserina, e esfingomiéline, e contribui para a secreção de interleucina 1beta de macrófagos (Zhou et al., 2002; Quazi; Molday, 2013; Wang et al., 2020; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

O gene *ABCA1* pode ser regulado positivamente pelos Receptores X do Fígado (LXR) e Receptores X Retinóicos (RXR) (Oram; Vaughan, 2006; Koldamova; Fitz; Lefterov, 2014). A hipermetilação do seu promotor também pode ser fator de regulação (Lee et al., 2013). A proteína de ligação ao elemento responsiva a esteróis (SREBP-2), regula negativamente o *ABCA1* (Zeng et al., 2004).

Alguns miR também estão relacionados com a regulação positiva ou negativa de *ABCA1*, como miR-33 (um microRNA intrônico (miRNA) localizado dentro do gene que codifica o Fator de Transcrição de Ligação de Elemento Regulador de Esteróis 2 (SREBF-2) pode favorecer sua regulação positiva (Rayner et al., 2010). Enquanto, o miR-96 (Moazzeni; Najafi; Khani, 2017), os miR-27, miR-144, miR-145 e miR-148 (Kang et al., 2013), miR-33 e miR-758 tem um efeito inibitório aditivo na expressão da proteína *ABCA1* (Ramirez et al., 2011), miR-106b (Kim et al., 2012), podem inibir sua expressão.

A expressão diminuída do gene *ABCA1* foi observada no câncer de próstata (Cerami et al., 2012; Lee et al., 2013). Essa diminuição da expressão pode ser uma característica boa, uma vez que, nas vias de sinalização celular o *ABCA1* interage com o p53 (um gene supressor tumoral), diminuindo a expressão de *ABCA1* (Moon et al., 2019).

Em contraste, provavelmente relacionada a outros mecanismos, foi observada alta expressão de *ABCA1* no câncer de ovário (Hedditch et al., 2014; Elsnerova et al., 2017), câncer de mama de alto grau e triplo negativo (Pan et al., 2019), no adenocarcinoma gástrico (Yin et al., 2021; Liu et al., 2023), em linhagens de células de câncer de mama metastático (Nieva et al., 2012), também foi observado o aumento de sua expressão

quando relacionado à quimiorresistência em câncer de pulmão (Prochazka et al., 2013), melanoma (Bachmeier et al., 2009) e câncer de ovário seroso (Park et al., 2006; Wang et al., 2021).

A alta expressão de *ABCA1* correlaciona-se com um risco aumentado de recorrência em câncer colorretal (Fernández et al., 2018), câncer de mama (Zhao et al., 2016) e com a diminuição da sobrevida global no câncer gástrico (Yin et al., 2021; Deng et al., 2022).

Um estudo observou que a desrepressão do promotor, por knockdown de *MYC*, leva à indução da expressão de *ABCA1*, revelando a sua ligação entre fenótipos malignos, parecendo correlacionar-se menos com iniciação e proliferação tumoral e mais com a progressão tumoral e resistência, todavia, um mecanismo definitivo ainda não foi estabelecido (Prijic; Chang, 2022).

1.2.2 ABCA2

A proteína ABCA2 apresenta 2.436 aminoácidos, com massa molecular de aproximadamente 250 kDa, está localizada na membrana do endossomo, lisossomos, e membrana plasmática (Figura 3) (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

Dentre suas funções, estão o sequestro de colesterol no endossoma/lisossoma, por meio da regulação do metabolismo intracelular de esfingolipídios, a participação da translocação e floppase de ceramida, a participação no metabolismo de esfingolipídios, de gangliosídeos, glicoesfingolipídios, esfingosina, esfingomielina. Além disso, pode desempenhar um papel na formação de mielina e apresenta resposta a estímulos de xenobióticos, hormônio esteroide, e regula o metabolismo do receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR) (Kaminski et al., 2001; Davis, 2011; Davis, 2014; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

Quanto a regulação gênica que pode influenciar no aumento ou diminuição da sua expressão, o gene *ABCA2* pode ser modulado e apresentar correlação negativa com miR-124-3p (Zhang et al., 2020), miR-205 (Alla et al., 2012) e miR-326 (Ghodousi; Rahgozar, 2018). Também pode ser regulado positivamente pela proteína de resposta de crescimento precoce 1 (EGR-1) (Davis, 2003), por TFEB (fator de transcrição EB) (Zhu et al., 2021) e por SREBP-2 (Davis; Tew, 2018).

Notadamente, foi observado o aumento da expressão de *ABCA2* em leucemia linfoblástica aguda de células T, especialmente correlacionada com quimiorresistência (Efferth et al., 2006), em leucemia mieloide aguda (Marzac et al., 2011), em linhagem de carcinoma de próstata, resistente à estramustina (Ile et al., 2004), em linhagem celular de carcinoma ovariano humano, resistente à estramustina (SKEM) (Laing et al., 1998), no câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017), no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013) e em células humanas de câncer astrogial CRT-MG (Gotovdorj et al., 2014). Já em câncer colorretal foi observado que *ABCA2* é regulado negativamente (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017).

1.2.3 ABCA3

A proteína *ABCA3* apresenta 1.704 aminoácidos e massa molecular de 191 kDa, está presente na membrana plasmática e na membrana lisossômica (Figura 3). Participa da atividade do transporte dependente de ATP de fosfolipídios (como fosfatidilcolina e fosfoglicerol), de efluxo de miltefosina, participa da biogênese dos corpos lamelares e da homeostase do surfactante pulmonar (Matsumura et al., 2006; Albrecht; Viturro, 2007; Li et al., 2019; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

O gene *ABCA3* pode sofrer influencia quanto a regulação da expressão por hipermetilação do DNA (Wang et al., 2019) apresentando correlação negativa. Pode ser regulado negativamente por miR-34a (Takano et al., 2017), miR-200 (Benhabib et al., 2015), por miR-335-3p (Pouyanrad; Rahgozar; Ghodousi, 2019). Já a expressão regulada positivamente pode ocorrer por glicocorticóides (Yoshida; Ban; Inagaki, 2004).

ABCA3 apresentou aumento da expressão em leucemia linfoblástica aguda de células T correlacionada com quimiorresistência (Efferth et al., 2006), em leucemia mieloide aguda (LMA) também correlacionada com quimiorresistência (Yasui et al., 2004; Steinbach et al., 2006; Chapuy et al., 2008), no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013) e em células humanas de câncer astrogial CRT-MG (Gotovdorj et al., 2014).

1.2.4 ABCA4

A proteína *ABCA4* possui 2.273 aminoácidos e massa molecular de aproximadamente 256 kDa, localiza-se na membrana plasmática e na lisossômica (Figura

3). Participa da atividade de transporte e flippase, dependente de ATP, da retinal-fosfatidiletanolamina, produção de retinol todo trans (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Quazi; Lenevich; Molday, 2012; Quazi; Molday, 2013; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

O gene *ABCA4* é alvo dos miR-145-5p (Liu et al., 2019), miR-4488 e miR-1273 g-5p (Dong; Wang; Li, 2021) quanto a modulação negativa da sua expressão. Foi observado o aumento da expressão *ABCA4* em câncer de ovário epitelial estágio I (Hedditch et al., 2014), e esse aumento foi associado com melhor resposta quimioterápica em carcinoma seroso ovariano metastático (Nymoer et al., 2015).

1.2.5 ABCA5

A proteína ABCA5 apresenta 1.642 aminoácidos, massa molecular de aproximadamente 183 kDa, é encontrada na membrana endossomal, no aparelho de Golgi e no nucleoplasma (Figura 3). Participa na regulação da produção de Peptídeos β -Amilóide e participa do transporte de colesterol (Fu et al., 2014; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Petry; Kotthaus; Hirsch-Ernst, 2003).

O gene *ABCA5* é regulado negativamente por miR-205 (Alla et al., 2012), regulado positivamente por proteína mutante de ataxia-telangiectasia (ATM) (Zhou et al., 2022). Foi observada a baixa expressão de *ABCA5* no câncer colorretal, correlacionada com mau prognóstico (Bu et al., 2022) e no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013). Em contraste. Já o aumento de expressão de *ABCA5* foi observada em osteossarcoma metastático para o pulmão (Saini et al., 2012), no câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017; Hedditch et al., 2014), no câncer de próstata (Karatas et al., 2016).

1.2.6 ABCA6

A proteína ABCA6 contém 1.617 aminoácidos com massa molecular de aproximadamente 160 kDa, apresenta localização celular na membrana plasmática, aparelho de Golgi e nucleoplasma (Figura 3). Participa da fagocitose de macrófagos e do transporte lipídico (Gai et al., 2013; Kaminski et al., 2001; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

ABCA6, que geralmente é pouco expresso em células do sarcoma de Ewing, quando regulado positivamente, tornou-se um fator prognóstico de um resultado favorável em pacientes, visto que sua alta expressão prejudicou a migração celular e aumentou a quimiossensibilidade celular pela diminuição dos níveis intracelulares de colesterol e pela ativação de IGF1R/AKT/mTOR (Pasello et al., 2022).

No entanto, em câncer gástrico foi observado maior expressão desse gene com risco associados à sobrevivência (Xue et al., 2022). Também foi observado alta expressão no câncer de ovário (Hedditch et al., 2014), no câncer de colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017). Por outro lado, foi observado baixa expressão no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013), pancreático (Mohelnikova-Duchonova et al., 2013) e câncer gástrico associado a um bom prognóstico (Gong et al., 2022).

1.2.7 ABCA7

A proteína ABCA7 apresenta 2.146 aminoácidos e massa molecular 234 kDa, localiza-se no retículo endoplasmático, na membrana endossomal, no aparelho de Golgi e na membrana plasmática (Figura 3). Participa da translocação de fosfolípidios, transporta fosfatidilserina e fosfatidilcolina, apresenta papel na homeostase lipídica, da depuração fagocitária de β -amilóide no cérebro e na fagocitose mediada por macrófagos (Albrecht; Viturro, 2007; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

ABCA7 pode ter sua expressão regulada negativamente por miR-197-3p (Xie et al., 2020). Foi observado alta expressão de *ABCA7* no câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017) e no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013), mas regulado negativamente em linhagens celulares de melanoma (Heimerl et al., 2007) e no câncer de colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017; Hlavata et al., 2012).

1.2.8 ABCA8

A proteína ABCA8 contém 1.581 aminoácidos com massa molecular de 179 kDa, apresenta duas isoformas, estão localizadas na membrana plasmática e retículo endoplasmático (Figura 3) (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

Participa do efluxo de colesterol (independente da apolipoproteína), da importação dependente de ATP de taurocolato e sulfato de estrona, da micotoxina ocratoxina A (observado *in vitro*) e do transporte de xenobióticos. Também pode participar da biossíntese de esfingomiéline, e modular os níveis de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL) (Kim et al., 2013; Trigueros-Motos et al., 2017; Tsuruoka et al., 2002; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

O *ABCA8* pode ter sua expressão regulada negativamente por miR-374b-5p (Cui et al., 2020). Nesse sentido, foi observado que o *ABCA8* é regulado negativamente em carcinoma hepatocelular (Cui et al., 2020), câncer de próstata (Demidenko et al., 2015), câncer de ovário (Liu et al., 2015), carcinoma de células escamosas da língua (Ye et al., 2008), câncer de mama (Hlaváč et al., 2013) e câncer gástrico (Guo et al., 2020; Xie et al., 2023). Esse comportamento pode induzir estresse oxidativo e produção de ROS através do acúmulo intracelular de colesterol, ativando vias de sinalização que podem facilitar o crescimento e a metástase das células, estando associado a um mau prognóstico (Cui et al., 2020).

Já a alta expressão de *ABCA8* foi observada em câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017; Hedditch et al., 2014), câncer colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017), e no câncer gástrico associado com um pior prognóstico (Ding et al., 2020).

1.2.9 ABCA9

A proteína ABCA9 apresenta 1.624 aminoácidos com massa de 184 kDa, está localizada na membrana plasmática e retículo endoplasmático (Figura 3). Participa da diferenciação de monócitos, no transporte e homeostase lipídica, e exibe grande homologia com ABCA8 (72%) e ABCA6 (60%), respectivamente (Hwang; Lee; Cho, 2023; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Piehler et al., 2002).

Foi observado alta expressão do *ABCA9* no câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017; Hedditch et al., 2014), mas apresentou-se com baixa expressão no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013) e no câncer colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017).

1.2.10 ABCA10

A proteína ABCA10 contém 1.543 aminoácidos e massa molecular de 176 kDa, localiza-se na membrana plasmática (Figura 3). Participa do transporte e homeostase de lipídeos (Albrecht; Viturro, 2007; Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020). A expressão de *ABCA10* estava diminuída no câncer colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017), e aumentada no câncer de ovário (Elsnerova et al., 2017).

1.2.11 ABCA12

A proteína ABCA12 apresenta aproximadamente um pouco mais de 2.500 aminoácidos, massa molecular de 293 kDa, e apresenta semelhança de aminoácidos de 47% com ABCA1. Está localizada na membrana plasmática, no lisossoma, citoplasma e aparelho de Golgi (Figura 3) (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020).

Participa do transporte de glicosilceramidas, das enzimas proteolíticas, regula a homeostase do colesterol celular, desempenha papéis pleiotrópicos na regulação da secreção de insulina estimulada por glicose das células beta, regulando a morfologia e a fusão dos grânulos de insulina, a abundância da balsa lipídica e o citoesqueleto de actina. Também participa da biogênese do surfactante pulmonar (Annilo et al., 2002; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

Em relação a expressão gênica no câncer, foi observado aumento de expressão de *ABCA12* no câncer colorretal (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017), e no câncer de mama (Hlaváč et al., 2013), porém é regulado negativamente em linhagens celulares de melanoma (Heimerl et al., 2007).

1.2.12 ABCA13

A proteína ABCA13 contém 5.058 aminoácidos e massa molecular 576 kDa, localiza-se na membrana plasmática (Figura 3). Participa da homeostase lipídica, mediando o transporte de colesterol e gangliosídeos (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Tsuruoka et al., 2002; Uniprot, 2023 - <https://www.uniprot.org>).

Quanto a modulação da sua expressão, o aumento da expressão do miR-138 leva à degradação de ABCA13 (Yun et al., 2017). Foi observado a expressão diminuída em carcinomas de células renais de células claras (Arai et al., 2014). No entanto, foi

observado aumento de expressão de *ABCA13* no câncer de ovário (Nymoer et al., 2015), no câncer de mama (Dvorak; Pesta; Soucek, 2017) no câncer colorretal (Hlavata et al., 2012).

Neste sentido, os genes da família *ABCA* apresentam importância por estarem desregulados em várias doenças humanas, como a doença de Tangier (Choi et al., 2023), degeneração macular relacionada à idade (Piehler et al., 2002), deficiência fatal de surfactante ou ictiose arlequim (Albrecht; Viturro, 2007), diabetes (Machado-Lima et al., 2013; Yassine et al., 2014), fibrose cística, adrenoleucodistrofia, degeneração da retina, defeitos no transporte biliar (Dean; Moitra; Allikmets, 2022), doença cardiovascular (Wang et al., 2022), aterosclerose (Chen et al., 2021), doença de Alzheimer (Lewandowski; Laham; Thatcher, 2022), doença pulmonar obstrutiva crônica (Kotlyarov, 2021) e vários tipos de câncer (Elsnerova et al., 2017; Hedditch et al., 2014; Liu et al., 2023; Pan et al., 2019; Yin et al., 2021).

A família *ABCA*, quando desregulada no câncer, está associada a estadiamento avançado, diminuição da sobrevida e quimiorresistência, disseminação de células tumorais e metástases (Pasello et al., 2022). Nesse sentido, foi observado sua desregulação em câncer colorretal (Aguirre-Portolés et al., 2018), mama (Pan et al., 2019; Park et al., 2006; Uddin; Wang, 2022), pancreático (Mohelnikova-Duchonova et al., 2013), ovário (Liu et al., 2015), hepatocelular (Cui et al., 2020), próstata (Demidenko et al., 2015) e adenocarcinoma do estômago (Guo et al., 2020).

A expressão elevada é um fator que pode contribuir para quimiorresistência. A exemplo disso, a expressão elevada de *ABCA1* se correlaciona com a resistência à mitoxantrona (Györfy et al., 2006). *ABCA1* e *ABCA12* mostraram expressão significativamente aumentada no grupo RD (doença residual) associado a uma capacidade de resposta diminuída a quimioterapia neoadjuvante sequencial semanal com paclitaxel/FEC (5-fluorouracil, epirrubicina e ciclofosfamida) (Park et al., 2006). Já *ABCA3* mostrou ter expressão aumentada nas células resistentes a drogas e superexpressão associada à resistência terapêutica em leucemia mieloide aguda (LMA) na infância (Steinbach et al., 2006; Yasui et al., 2004).

Embora estudos dos genes da família *ABCA* com CG sejam escassos, é importante conhecer os impactos da desregulação da expressão desses genes neste tipo de câncer para traçar estratégias prognósticas. Assim, isso corrobora a possibilidade de usar moduladores

do transportador ABC em combinação com drogas quimioterápicas anticancerígenas para melhorar a eficácia terapêutica (Xiao et al., 2021).

Considerando a importância dos membros da família *ABCA* em pontos-chaves da terapia com CG, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de expressão gênica desses transportadores e correlacionar os resultados com as características clínicas dos pacientes, com o objetivo de melhor compreender sua influência na gênese e prognóstico desta patologia.

Desta forma, avaliar o perfil da expressão de genes da família *ABCA* pode contribuir com a possibilidade de serem usados como biomarcadores de CG, sendo úteis para detecção das alterações por vários métodos de biologia molecular, patologia ou mesmo análise de CTC “circulating tumor cell”. Logo, ferramentas como qPCR, microarrays de expressão e RNAseq para a análise do transcriptoma (San Segundo-Val; Sanz-Lozano, 2016) são importantes, pois permitem analisar de forma abrangente os perfis do genoma do câncer em níveis de pesquisa e clínicos (Nakagawa; Fujita, 2018).

1.3 RNA-Seq: uma ferramenta poderosa para avaliar genes desregulados em Câncer Gástrico

A identidade de uma célula ou organismo é, pelo menos em parte, definida por sua expressão gênica e, portanto, a análise da expressão gênica continua sendo uma das técnicas experimentais mais frequentemente realizadas em biologia molecular (CHATTERJEE et al., 2018). Nesse sentido, avanços nas tecnologias de sequenciamento de larga escala (Sequenciamento de Nova Geração – NGS) resultaram em uma ampla gama de estudos de expressão gênica e um volume sem precedentes de dados de sequenciamento de RNA (Zoabi; Shomron, 2021).

O RNA-seq é uma técnica capaz de analisar padrões da expressão gênica que permite a identificação e quantificação de moléculas de RNA de uma amostra biológica (Simoneau et al., 2021). O RNA-Seq oferece a oportunidade de estimar a abundância de isoformas e encontrar novos transcritos (Withanage; Liang; Zeng, 2022). E a análise computacional de dados de RNA-seq pode ser usada para estimar perfis de expressão gênica em vários fenótipos e condições, ou detectar novos “splicing” alternativos em éxons específicos (Deshpande et al., 2023).

O RNA-Seq gera um grande volume de dados e a análise precisa desses dados envolve diversas etapas e escolhas de ferramentas (Chatterjee et al., 2018). Geralmente, o fluxo de trabalho representativo de experimentos RNA-seq inclui a extração e purificação do RNA da célula ou tecido, a preparação da biblioteca, que inclui a fragmentação, amplificação linear ou PCR, sequenciamento de RNA e a análise de dados de sequenciamento (Figura 4) (Shi et al., 2021).

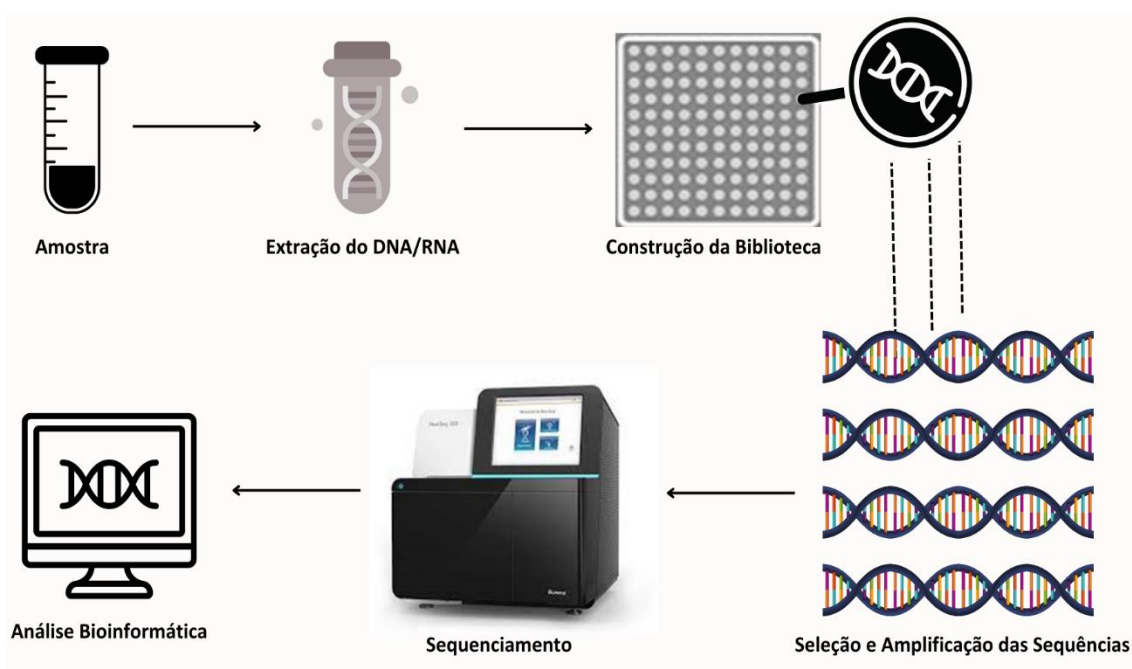


Figura 4. Etapas do RNA-Seq. **Fonte:** Autoria própria, 2023.

Para o uso de dados do RNA-seq para comparar a expressão entre as amostras, é necessário transformar milhões de leituras curtas em uma quantificação da expressão, na qual, primeiro, as leituras são mapeadas para o genoma ou transcriptoma. Em segundo lugar, leituras mapeadas para cada amostra são reunidas em resumos de expressão em nível de gene, nível de exon ou nível de transcrição, dependendo dos objetivos do experimento. Em seguida, os dados resumidos são normalizados em conjunto com o teste estatístico de expressão diferencial (DE), levando a uma lista classificada de genes com valores P associados e alterações de dobra. Finalmente, informações biológicas dessas listas podem ser obtidas realizando abordagens de biologia de sistemas (Oshlack; Robinson; Young, 2010).

Atualmente, o RNA-seq tem sido amplamente utilizado em pesquisas biológicas, médicas, clínicas e farmacêuticas (Shi et al., 2021), vem sendo bastante utilizado para avaliar a expressão de amostras de vários tipos de câncer como por exemplo gástrico (Sun et al., 2021), colorretal (Chen et al., 2021a), hepatocelular (Yu et al., 2022), pulmão (Li et al., 2022). Nesse sentido, é de relevância clínica investigar molecularmente os cânceres gástricos na tentativa de identificar novos alvos para a prevenção e tratamento. E a tecnologia de RNA-seq permite a aplicação de genômica funcional em larga escala à pesquisa do câncer e sua aplicação em ambientes clínicos pode permitir a identificação de perfis individuais de expressão gênica a serem usados como potenciais biomarcadores no tratamento do câncer gástrico (Carino et al., 2021).

Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil de expressão dos genes da família *ABCA*, comparando tecidos adjacentes e de GC, tratados ou não com terapia neoadjuvante, ausência ou presença de patógenos, correlacionando-os com as características clínicas e a expressão de outros genes relevantes para o câncer em pacientes com GC, por meio de uma análise robusta de NGS (RNA-Seq).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil de expressão diferencial dos genes da família *ABCA* em amostras tumorais e adjacentes ao tumor por meio de RNA-Seq e correlacionar com aspectos clínicopatológicos em pacientes com adenocarcinoma gástrico do estado do Pará.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sugerir possíveis biomarcadores dos membros da família *ABCA* no câncer gástrico;
- Correlacionar a expressão gênica dos membros da família *ABCA* com estadiamento e classificação histológica de Laurén (difuso e intestinal) nas amostras de câncer gástrico;
- Investigar a expressão dos genes *ABCA* entre tecidos adjacentes e de câncer gástrico sob influência da terapia neoadjuvante;
- Analisar a expressão dos genes da família *ABCA* nas amostras positivadas para *H. pylori* e *Epstein-Barr* vírus;
- Avaliar a correlação dos genes *CTSL*, *CTSK*, *GJAI*, *TEPP*, *GAGE1* e *S100A3* com os genes da família *ABCA* no câncer gástrico;
- Investigar o perfil de expressão das isoformas dos genes da família *ABCA* no câncer gástrico;
- Analisar a influência do polimorfismo dos genes *ABCA* na sobrevivência ao câncer gástrico.

3 CAPÍTULO I

IMPACT OF EXPRESSION Deregulation IN *ABCA* FAMILY GENES IN GASTRIC ADENOCARCINOMA

Daniele de Araújo Moysés, Eliel Barbosa Teixeira, Natasha Costa da Rocha Galucio, Thaissa Vitoria Portal Rodrigues, Taíssa Maíra Thomaz Araújo, Jéssica Manoelli Costa da Silva, Bruna Cláudia Meireles Khayat, Sidney Emanuel Batista dos Santos, Paulo Pimentel de Assumpção, Fabiano Cordeiro Moreira and André Salim Khayat.

O artigo foi submetido na revista Journal of Molecular Medicine.

Journal of Molecular Medicine
IMPACT OF EXPRESSION DEREGLATION IN ABCA FAMILY
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JMME-D-23-00510
Full Title:	IMPACT OF EXPRESSION DEREGLATION IN ABCA FAMILY
Article Type:	Original Article
Corresponding Author:	Daniele de Araújo Moysés, MD UFPA: Universidade Federal do Para Belém, Pará BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	UFPA: Universidade Federal do Para
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Daniele de Araújo Moysés, MD
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Daniele de Araújo Moysés, MD Eliel Barbosa Teixeira Natasha Costa da Rocha Galucio Thaissa Vitoria Portal Rodrigues Taíssa Máira Thomaz Araújo Jéssica Manoelli Costa da Silva Bruna Cláudia Meireles Khayat Sidney Emanuel Batista dos Santos Paulo Pimentel de Assumpção Fabiano Cordeiro Moreira André Salim Khayat
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	<p>Considering the importance of ABCA family members in key points of gastric cancer (GC) and its therapy, this study aimed to evaluate the expression profile of this transporter family, comparing adjacent and gastric cancer tissues, treated or not with neo-adjuvant therapy, absent or presence of pathogens, correlating it with the clinical characteristics as and expression of other cancer relevant genes in GC patients. Through a NGS robust analysis (RNA-Seq), we observed that ABCA1 showed high expression in GC, being positively correlated with the expression of CTSL, CTSK and GJA1 genes and negatively correlated with TEPP, GAGE1, VN1R7P and RNA5SP389 genes. Additionally, it was hyperexpressed in positive Epstein-Barr samples. On the other hand, ABCA6, ABCA8 and ABCA9 genes showed low expression in GC. It is noteworthy that ABCA8 showed increased expression after therapy with FLOT (docetaxel, oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin). ABCA8 showed a negative correlation with S100A3 gene and a positive correlation with ABCA6. ABCA9 expression, on the other hand, was positively correlated with GAGE1, ABCA13, VNIR7P, MTND5P7 and MTND5P13 expression and negatively correlated with CTSL and ABCA1. Polymorphisms in these genes (ABCA1 rs2066714 and rs2230806, ABCA6 rs7212506, ABCA10 rs2886232 and ABCA12 rs2274412) have also been associated with clinically relevant aspects, such as survival. Thus, the results indicate that the ABCA1, ABCA6, ABCA8 and ABCA9 genes are relevant for understanding the genesis, progression, and therapeutic response in gastric cancer.</p>

Suggested Reviewers:	Rommel Mário Rodríguez Burbano rommel@ufpa.br	
	Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes carolfam@gmail.com	
Opposed Reviewers:		
Funding Information:	FAPESPA (004/2021)	Dr Paulo Pimentel de Assumpção
	CNPq (433961/ 2018-0)	Dr Paulo Pimentel de Assumpção

Dear Editors,

We are contacting you to submit our research study entitled "Impact of Expression Deregulation in *ABCA* Family Genes in Gastric Adenocarcinoma" of the researchers Daniele de Araújo Moysés, Eliel Barbosa Teixeira, Natasha Costa da Rocha Galucio, Thaissa Vitoria Portal Rodrigues, Taíssa Maíra Thomaz Araújo, Jéssica Manoelli Costa da Silva, Bruna Cláudia Meireles Khayat, Sidney Emanuel Batista dos Santos, Paulo Pimentel de Assumpção, Fabiano Cordeiro Moreira and André Salim Khayat, to be considered for publication in the Journal of Molecular Medicine.

Considering the importance of members of the *ABCA* family in key points of several human diseases, such as Tangier's disease, retinal degeneration, and several types of cancers (breast, colorectal, pancreatic, hepatocellular, prostate and stomach adenocarcinoma), and in cancer gastric (GC) studies are scarce, this study sought to investigate the expression profile of this transporter family, comparing adjacent tissues and those of gastric cancer, treated or not with neoadjuvant therapy, in the absence or presence of pathogens, correlating it with the clinical characteristics and expression of other genes relevant to the cancer in patients with GC in the northern region of Brazil, which is one of the regions with the highest incidence of this type of cancer. Through a robust analysis of NGS (RNA-Seq), we observed that the genes *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* are relevant for understanding the genesis, progression and therapeutic response in gastric cancer.

These discoveries are important for our peers and for everyone who seeks to collaborate in cancer research, since in recent years, there has been an increase in research focused on the genes of the *ABCA* family and their implications in carcinogenesis and cancer therapy, in addition to the fact of gastric cancer being a type of difficult treatment and shorter survival time, with diagnosis usually late. In this sense, our research sought to present information that allows other researchers to explore its possible application in new studies focused on this theme.

We certify that this manuscript has not been published elsewhere and is not under consideration by another journal, all authors have approved the manuscript and are in agreement with its submission to the journal. We are fully aware of the reach of the Journal of Molecular Medicine, justifying our intention to enthusiastically submit our scientific article for your consideration.

Kind regards,

Daniele de Araújo Moysés

Key messages

In gastric cancer, *ABCA1* is overexpressed and associated with changes in the expression of genes linked to gastric carcinogenesis. In the presence of *H. pylori*, its expression is reduced, while in the presence of *Epstein-Barr*, it is increased.

Polymorphisms in *ABCA1* rs2066714 and rs2230806, *ABCA6* rs7212506, *ABCA10* rs2886232, *ABCA12* rs2274412 have been associated with decreased survival.

ABCA8 demonstrated low expression in GC, increased expression after FLOT therapy, negative correlation with the *S100A3* gene and positive with *ABCA6*.

ABCA9 demonstrated low expression in GC, positive correlation with the expression of *GAGE1*, *ABCA13*, *VNIR7P*, *MTND5P7* and *MTND5P13* and negative correlation with *CTSL* and *ABCA1*.

Click here to view linked References

IMPACT OF EXPRESSION DEREGLATION IN ABCA FAMILY GENES IN GASTRIC ADENOCARCINOMA

Daniele de Araújo Moysés^{1,3*} †, Eliel Barbosa Teixeira^{1,5} †, Natasha Costa da Rocha Galucio¹,
Thaissa Vitoria Portal Rodrigues^{1,4}, Taíssa Maíra Thomaz Araújo¹, Jéssica Manoelli Costa da
Silva^{1,3}, Bruna Cláudia Meireles Khayat^{1,2}, Sidney Emanuel Batista dos Santos¹, Paulo
Pimentel de Assumpção¹, Fabiano Cordeiro Moreira¹ and André Salim Khayat^{1,2}.

¹ Oncology Research Center, Federal University of Pará, Belém 66073-005, PA, Brazil.

² Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66077-830, PA, Brazil.

³ Graduate Program in Genetics and Molecular Biology-Federal University of Pará (UFPA), Brazil

⁴ Graduate Program in Oncology and Medical Sciences, Federal University of Pará, Belém 66073-005, Brazil.

⁵ Graduate Program in Biotechnology, Federal University of Pará, Belém 66073-005, Brazil.

*Corresponding author(s). E-mail(s): quimica.dani@gmail.com;

Contributing authors: quimica.dani@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0001-6956-1381>);
eliel.teixeira@icen.ufpa.br (<https://orcid.org/0000-0001-5102-1811>); natashagalucio@gmail.com
(<https://orcid.org/0000-0003-4923-1478>); thaissa.rodrigues@icb.ufpa.br (<https://orcid.org/0000-0001-8912-9369>); taissa_araujo@hotmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-1716-4445>); jmanucosta@gmail.com
(<https://orcid.org/0000-0002-4896-5034>); brunamk@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-3962-1483>);
sidneysantosufpa@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-8622-9417>); assumacao@gmail.com
(<https://orcid.org/0000-0003-3846-8445>); fcmoreira@ufpa.br (<https://orcid.org/0000-0002-2799-3546>);
khayatas@gmail.com (<https://orcid.org/0000-0002-3451-6369>).

†These authors contributed equally to this work.

Acknowledgment and Funding

This research was funded by FAPESPA (Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas), and
CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico). Eliel Barbosa Teixeira and Jéssica
Manoelli Costa da Silva received a Doctoral fellowship from Coordination for the Improvement of Higher
Education Personnel (CAPES, www.gov.br/capes). Thaissa Vitoria Portal Rodrigues received Master fellowship
from CAPES. Sidney Emanuel Batista dos Santos, Paulo Pimentel de Assumpção and André Salim Khayat
received Researcher Fellowship (PQ) from CNPq. The Federal University of Pará (UFPA, www.ufpa.br) financial
support part of this work, and other researchers for their intellectual support in the collaboration opportunities that
arose through our research.

Abstract

Considering the importance of *ABCA* family members in key points of gastric cancer (GC) and its therapy, this study aimed to evaluate the expression profile of this transporter family, comparing adjacent and gastric cancer tissues, treated or not with neo-adjuvant therapy, absent or presence of pathogens, correlating it with the clinical characteristics as and expression of other cancer relevant genes in GC patients. Through a NGS robust analysis (RNA-Seq), we observed that *ABCA1* showed high expression in GC, being positively correlated with the expression of *CTSL*, *CTSK* and *GJA1* genes and negatively correlated with *TEPP*, *GAGE1*, *VNIR7P* and *RNA5SP389* genes. Additionally, it was hyperexpressed in positive *Epstein-Barr* samples. On the other hand, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* genes showed low expression in GC. It is noteworthy that *ABCA8* showed increased expression after therapy with FLOT (docetaxel, oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin). *ABCA8* showed a negative correlation with *S100A3* gene and a positive correlation with *ABCA6*. *ABCA9* expression, on the other hand, was positively correlated with *GAGE1*, *ABCA13*, *VNIR7P*, *MTND5P7* and *MTND5P13* expression and negatively correlated with *CTSL* and *ABCA1*. Polymorphisms in these genes (*ABCA1* rs2066714 and rs2230806, *ABCA6* rs7212506, *ABCA10* rs2886232 and *ABCA12* rs2274412) have also been associated with clinically relevant aspects, such as survival. Thus, the results indicate that the *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* genes are relevant for understanding the genesis, progression, and therapeutic response in gastric cancer.

Keywords: Adenocarcinoma; Gastric Cancer; *ABCA*; Neoadjuvant; *H. pylori*; *Epstein-Barr* virus.

1 Introduction

Gastric cancer (GC) is one of the main causes of cancer-related mortality worldwide, presenting itself as the fourth type of cancer with the highest rate of death [1]. It is estimated for each year of the triennium 2023 to 2025, in Brazil, more than 21,480 cases of gastric cancer, with the incidence almost twice as high for males compared to females [2]. GC usually carries a poor prognosis because it is often diagnosed at an advanced stage [3]. The presence of metastasis and recurrences, especially due to its chance of cure in late diagnosis, is a challenge, and surgery, while in early detection, is the best therapeutic strategy, in addition to the association with chemotherapy and radiotherapy [4]. Despite increasing patient survival, chemotherapy still presents some challenges, such as chemoresistance and nonspecificity [5]. Furthermore, an important prognosis-related complication for patients with GC is the lack of reliable biomarkers for predicting chemosensitivity and possible recurrence [6].

The *ABCA* family includes members 1 to 13, and is involved in processes related to lipid homeostasis and transport of various substances [7]. When deregulated in cancer, it is associated with advanced staging, decreased survival and chemoresistance [8], in colorectal [9], breast [10, 11, 12], pancreatic [13], ovary [14], hepatocellular [15], prostate [16] and stomach adenocarcinoma [17]. However, the specific roles of these *ABCA*

1 transporters in tumors are multifaceted and their associations with tumor malignancy are more complex than those
2 reported for other members of the ABC family that mediate multidrug resistance, and more recent findings indicate
3 additional contribution of these transporters to other processes, such as tumor cell dissemination and metastasis,
4 thus extending their possible roles in tumor progression [18].
5
6

7
8 Although studies with GC are scarce, it is important to know the impacts of the deregulation of the
9 expression of these genes in gastric adenocarcinoma in order to devise prognostic strategies. Thus, this
10 corroborates the possibility of using ABC transporter modulators in combination with anticancer chemotherapy
11 drugs to improve therapeutic efficacy [19]. Considering the importance of members of the *ABCA* family in key
12 points of GC therapy, this study aimed to evaluate the gene expression profile of these transporters and correlate
13 the results with clinical characteristics of the patients, with the aim of better understanding their influence on the
14 genesis and prognosis of this pathology.
15
16
17
18
19
20
21
22
23

24 **2 Material and methods**

25 **2.1 Samples and clinical data**

26
27
28 Samples of tumor (T) and adjacent non-tumor (NTA) tissue were obtained from 44 patients with a
29 confirmed diagnosis of gastric adenocarcinoma who underwent surgical resection at João de Barros Barreto
30 University Hospital (HUIBB). The clinical data of the participants were obtained by consulting the medical
31 records. The study was approved by the Research Ethics Committee (CAAE 47580121.9.0000.5634). Among the
32 aspects, we analyzed the classification according to Laurén (intestinal or diffuse), patient's survival, status
33 regarding the presence of *H. pylori* and *Epstein-Barr*, and therapeutic approach (with and without neoadjuvant
34 therapy, which follows the FLOT scheme that presents in its composition the drugs docetaxel, oxaliplatin, 5-
35 fluorouracil and leucovorin), associating these data with the gene expression of the *ABCA* family in gastric cancer
36 and adjacent non-tumor tissues.
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49

50 **2.2 Total RNA extraction**

51
52 The total RNA extraction was performed with TRIzol® (Invitrogen Life Technologies), according to the
53 manufacturer's instructions, and this was subsequently quantified and evaluated using Qubit 2.0 Fluorometer
54 (Thermo Fisher Scientific) and 2200 TapeStation System (Agilent Technologies AG, Basel, Switzerland).
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

2.3 Construction of libraries

1
2 For the construction of the libraries, the TruSeq Stranded Total RNA kit (Illumina) was used, according
3
4 to the manufacturer's instructions. Each sample was standardized to 100 ng/ μ L in 10uL final volume and reassessed
5
6 for RNA integrity. Only samples with an RNA integrity number (RIN) ≥ 5 were used for sequencing. Then,
7
8 ribosomal RNA depletion, cDNA synthesis, adapter binding, PCR amplification, and, finally, normalization, in
9
10 which the libraries were diluted to 10 mM in a 10 μ L volume, were done.
11

2.4 NGS sequencing

12
13
14
15
16 RNA-seq was run in pair-end on the NextSeq® platform (Illumina®, US). The NextSeq® 500 ID Output
17
18 V2 kit - 150 cycles (Illumina®) was used, according to the manufacturer's instructions.
19
20
21

2.5 Bioinformatics analysis

22
23
24 The reads obtained were converted to FASTQ format using the Reporter software, in which all identified
25
26 sequences and their respective quality sequences were encoded in ASCII. Then, the quality of the reads was
27
28 evaluated using FastQC, and a quality value (QV) greater than 15 was adopted as a parameter to evaluate the reads
29
30 generated in the sequencing. Finally, adapters and low quality reads were removed using the Trimmomatic [20].
31
32 The mapping of the reads was performed using the Salmon tool [21], in which the annotation of RNAs in the hg38
33
34 version of GENCODE was used (https://www.genecodegenes.org/human/release_38.html). The identified reads
35
36 were quantified and imported into the R statistical program [22], through the tximport library [23], and for the
37
38 analysis of differential gene expression and SNP, we used Wilconxon-Mann-Whitney test. Were considered
39
40 differentially expressed (DE) the transcripts whose expression difference presented the following criteria: i)
41
42 $|\text{Log}_2(\text{Fold-Change})| > 2$; ii) $p\text{-adjusted} < 0.05$. For the correlation analysis cut, only reads with $r \geq 0.6$, with
43
44 $(p < 0.05)$ and $\log_2[\text{fold change}] = 1$ were considered. ROC curve was performed to evaluate the potential
45
46 of the finding as an AUC biomarker ≥ 0.7 was used as a benchmark in this analysis.
47
48
49
50

2.6 Global Survival Analysis

51
52
53
54 To analyze the impact of RNA expression on overall survival (OS), the Kaplan-Meier curve (KM) was
55
56 used. The expression profiles of selected gastric cancer patients were normalized and dichotomized into two
57
58 groups based on expression levels using the Survminer package [24] available in R, which adopts the maximum
59

selected ranking statistic to provide a maximum cut-off point, corresponding to the most significant relationship with survival. Then, with the Survival package [25], the OS between the different groups for the identified DE RNAs was estimated. To analyze the difference between the curves, the log-rank test was adopted, with $p < 0.05$ being statistically significant.

3 Results

This study evaluated the expression of *ABCA* family genes and their impact on gastric carcinogenesis. The results obtained showed a significant increase in the gene expression of the *ABCA1* gene in cancer samples (Fig.1a), which also showed an association with tumor stage (Fig. 2a). The genes *ABCA6* (Fig.1i), *ABCA8* (Fig.1k), *ABCA9* (Fig.1l) showed reduced expression when compared to non-neoplastic tissues. There was no significant difference in expression between gastric cancer and adjacent tissues for the genes *ABCA10*, *ABCA12*, *ABCA13*, *ABCA2*, *ABCA3*, *ABCA4*, *ABCA5* and *ABCA7*. Regarding the clinical aspects, the expression of the *ABCA8* and *ABCA9* genes was associated with the histological subtype, with reduced expression in the intestinal type ($p < 0.05$) when compared to the diffuse one (Fig. 2b and 2c).

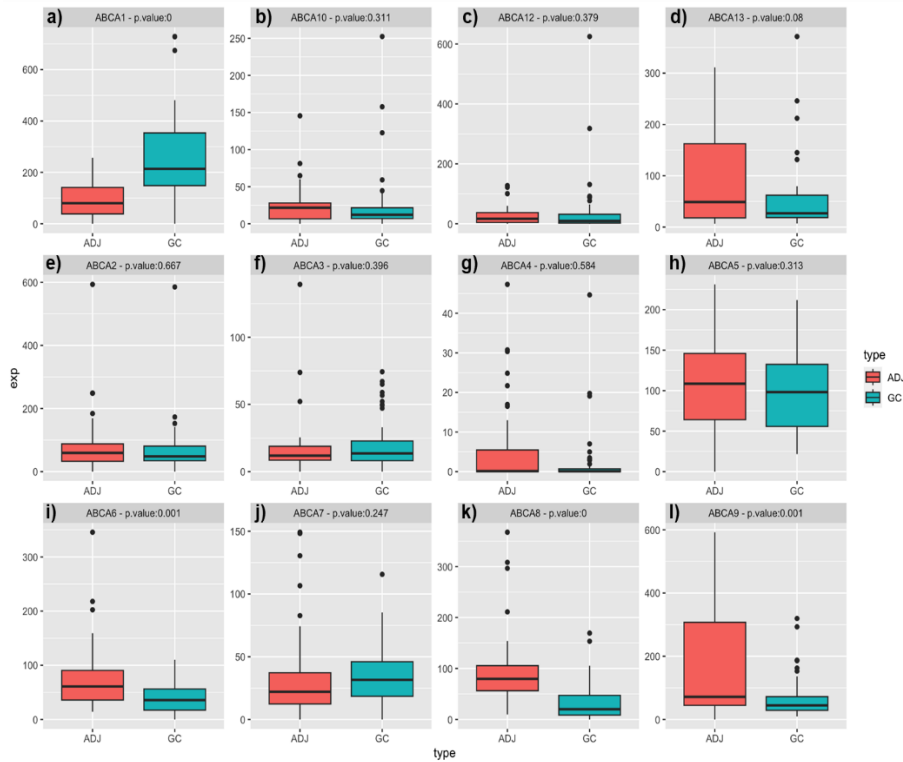


Fig. 1 Comparison of the ABCA Family Gene Expression Profile in Neoplastic and Non-Neoplastic Gastric Tissues. Set of graphs illustrating the comparison of the expression of the genes of the *ABCA* family - a) *ABCA1*, b) *ABCA10*, c) *ABCA12*, d) *ABCA13*, e) *ABCA2*, f) *ABCA6*, g) *ABCA4*, h) *ABCA5*, i) *ABCA6*, j) *ABCA7*, k)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

ABCA8, **d)** *ABCA9*) in neoplastic and non-neoplastic gastric tissues, with gene expression values represented on a scale corresponding to messenger RNA (mRNA) levels

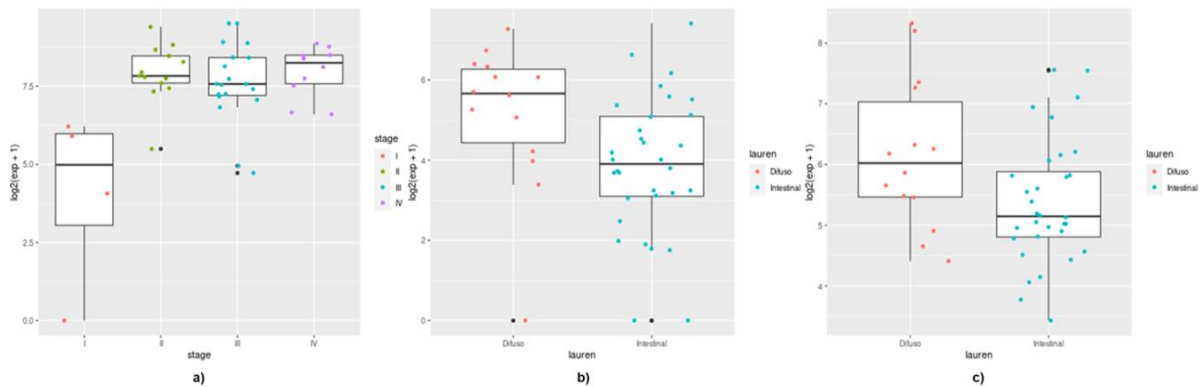


Fig. 2 Association between gene expression of the *ABCA* family and clinicopathological aspects of gastric cancer. **a)** Positive correlation between *ABCA1* gene expression level and GC staging. Association of *ABCA8*, **b)** and *ABCA9*, **c)** genes to the diffuse and intestinal subtypes, demonstrating reduced expression in the intestinal type

The ROC curve (Receiver Operational Characteristic) was generated for the *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* genes in GC, as they showed a significant difference in expression compared to adjacent tissue. The area under the curve (AUC) was 0.81 for *ABCA1*, 0.71 for *ABCA6*, 0.85 for *ABCA8* and 0.7 for *ABCA9* (**Fig. 3**).

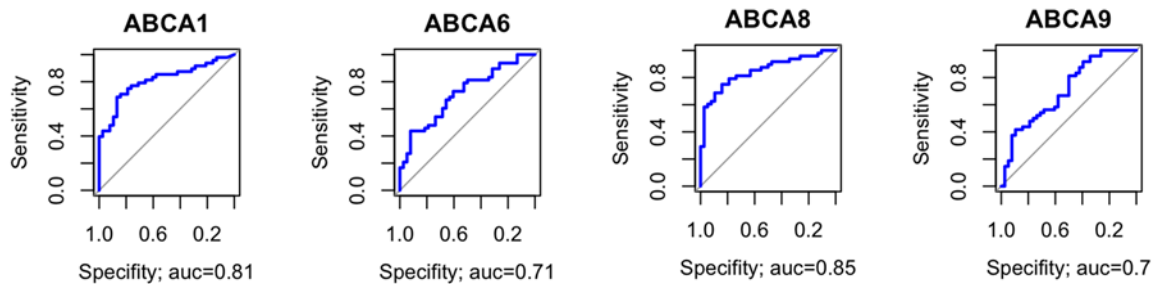


Fig. 3 Characteristic curve of operation of *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* gene receptors in gastric cancer. Set of graphs demonstrating that the *ABCA8* gene was most accurately differentiating between cancer and non-cancer (AUC=0.85), followed by *ABCA1* (AUC=0.81), *ABCA6* (AUC=0.71) and *ABCA9* (AUC=0.71) (=0.7)

Among those patients who underwent neoadjuvant therapy, an increase in the expression of the *ABCA8* gene was observed, when compared to those who did not undergo this chemotherapy protocol (**fig. 4**). Regarding the influence of the two main biological agents in GC and the expression of these genes, in *Helicobacter pylori* positive individuals, a decrease in the expression of the *ABCA1* ($p=0.0029$) and *ABCA5* ($p=0.02028$) genes was observed, as well as an increase in the expression of the *ABCA3* gene ($p=0.01912$). For

the gastric cancer samples positive for the *Epstein-Barr* virus, an increase in *ABCA1* gene expression was observed (p= 0.00741).

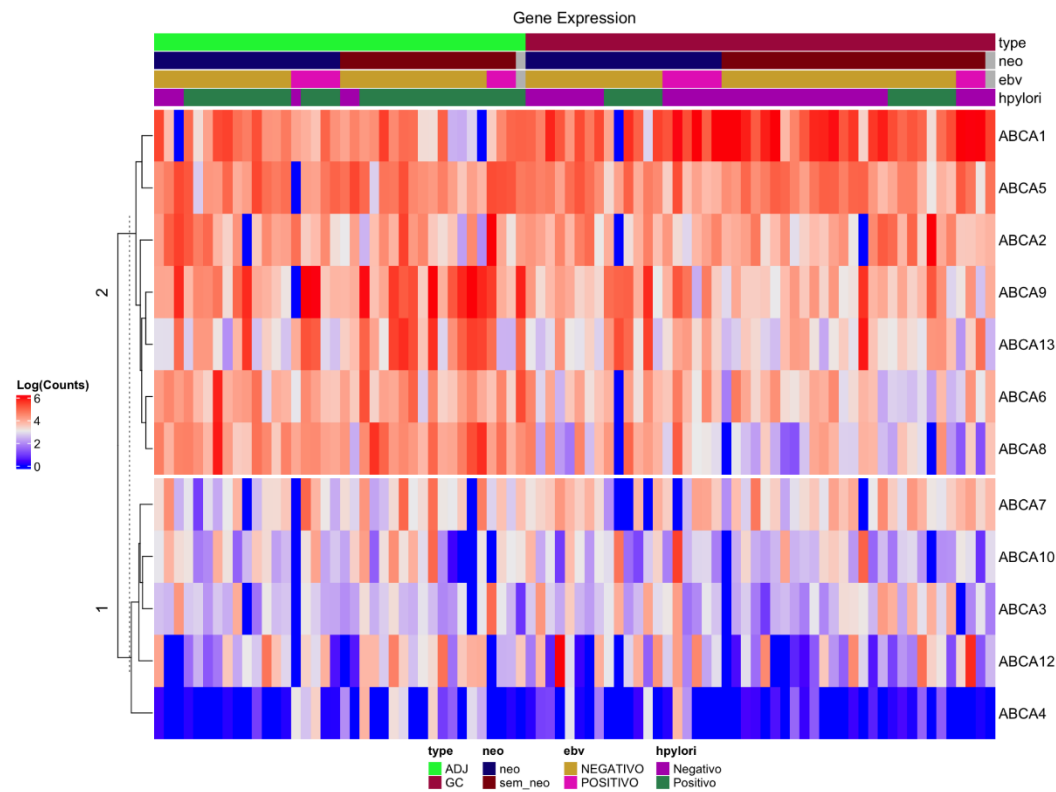


Fig. 4 Expression of *ABCA* family genes associated with clinicopathological conditions in GC. Heat map associating the level of expression of the *ABCA* family genes with clinical-pathological characteristics, such as: type, use or non-use of neoadjuvant therapy and positive or negative for *EBV* and *H. Pylori* infections

The correlation of the expression of the genes *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* with all genes of the transcriptome was analyzed, because they presented significant differences between adjacent tissue and gastric cancer. An important positive correlation of *ABCA1* together with the genes *CTSL*, *CTSK* and *GJA1* and negative correlation with *TEPP*, *GAGE1*, *VNIR7P* and *RNA5SP389* genes was observed (fig. 5A). *ABCA6* showed no correlation with any of the evaluated genes (fig. 5B). *ABCA8* showed a negative correlation with *S100A3* gene and a positive correlation with *ABCA6* (fig. 5C). *ABCA9* showed a positive correlation with *GAGE1*, *ABCA13*, *VNIR7P*, *MTND5P7* and *MTND5P13* genes and a negative correlation with *CTSL* and *ABCA1* (fig. 5D).

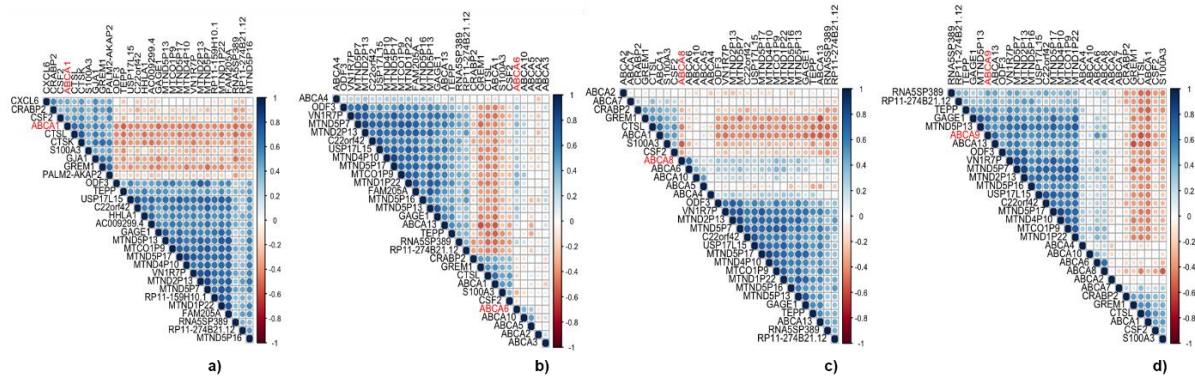


Fig. 5 Correlative analysis of *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8*, and *ABCA9* gene expression and other cancer-associated genes. Ensemble of graphs demonstrating negative (in red) and positive (in blue) correlation with genes *ABCA1* (a), *ABCA6* (b), *ABCA8* (c) and *ABCA9* (d)

Regarding the expression of the different isoforms of the *ABCA* family genes, some showed differentially increased expression in gastric cancer, such as the isoforms of *ABCA1* (201, 202, 203), *ABCA2* (206, 212), *ABCA3* (201, 204), *ABCA7* (201, 202, 207, 208) and *ABCA13* (204) ([Table 1](#) and [fig. 1](#) in [Supplementary Information](#)). Conversely, the isoforms of *ABCA3* (202), *ABCA6* (205), *ABCA7* (206), *ABCA8* (206), *ABCA9* (201, 206) and *ABCA13* (201, 208) expression was significantly reduced in gastric cancer.

Table 1 Nomenclature and Expression Profile of the Isoforms of the *ABCA* Family Genes in the GC

Clinicopathological characteristics	Gene	Isoform	Nomenclature (ensembl)	Change in Expression	
Gastric Cancer	<i>ABCA1</i>	ENST00000374733	201	high	
		ENST00000374736	202	high	
		ENST00000423487	203	high	
	<i>ABCA2</i>	ENST00000466707	212	high	
		<i>ABCA3</i>	ENST00000301732	201	high
			ENST00000382381	202	low
Neoadjuvant	<i>ABCA1</i>	ENST00000566200	204	high*	
		<i>ABCA6</i>	ENST00000590311	205	low
		<i>ABCA8</i>	ENST00000585850	206	low
Neoadjuvant	<i>ABCA9</i>	ENST00000340001	201	low	
		<i>ABCA1</i>	ENST00000374736	202	low
			ENST00000423487	203	low

	<i>ABCA8</i>	ENST00000585850	206	high
	<i>ABCA1</i>	ENST00000374736	202	low
<i>H. Pylori</i>		ENST00000423487	203	low
	<i>ABCA9</i>	ENST00000340001	201	high

Note: Association of expression between Isoforms of the *ABCA* family genes in GC ($p < 0.5$) and clinicopathological characteristics, such as: neoadjuvant therapy and positivity for *H. Pylori* infections in GC. * isoform observed only in GC

Some of the isoforms of *ABCA1* (202, 203) and *ABCA7* (202) showed reduced expression and *ABCA8* (206) had its expression increased under the effect of neoadjuvant therapy. Among the isoforms that showed differences in expression when in the presence of *H. pylori*, the 202 and 203 of *ABCA1* have reduced expression, and the isoforms 201 of *ABCA9* and 201 of *ABCA13* were increased in patients positive for this bacterium ([Table 1 and fig. 2 in Supplementary Information](#)).

The evaluation of Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) showed that some lower frequency (alternative) alleles are associated with a reduction in the survival rate in patients with GC ([Fig. 6](#)), such as *ABCA1* rs2066714, which is characterized by a substitution from thymine (T) to cytosine (C), originating a missense change with substitution at codon 883 from isoleucine to methionine, and rs2230806, which causes a substitution from C to T in the non-coding region at the end of the gene (downstream). In *ABCA6*, the rs7212506 leads to a C to T substitution, causing a missense change with a substitution at codon 875 from methionine to isoleucine, is also associated reduction of OS. Likewise, the rs2886232 of the *ABCA10* gene, which causes a substitution from T to C in the intron region, and the rs2274412 of the *ABCA12* gene that induces a substitution of guanine (G) for adenine (A) in the intron region, although intronic, also showed an association with reduced survival.

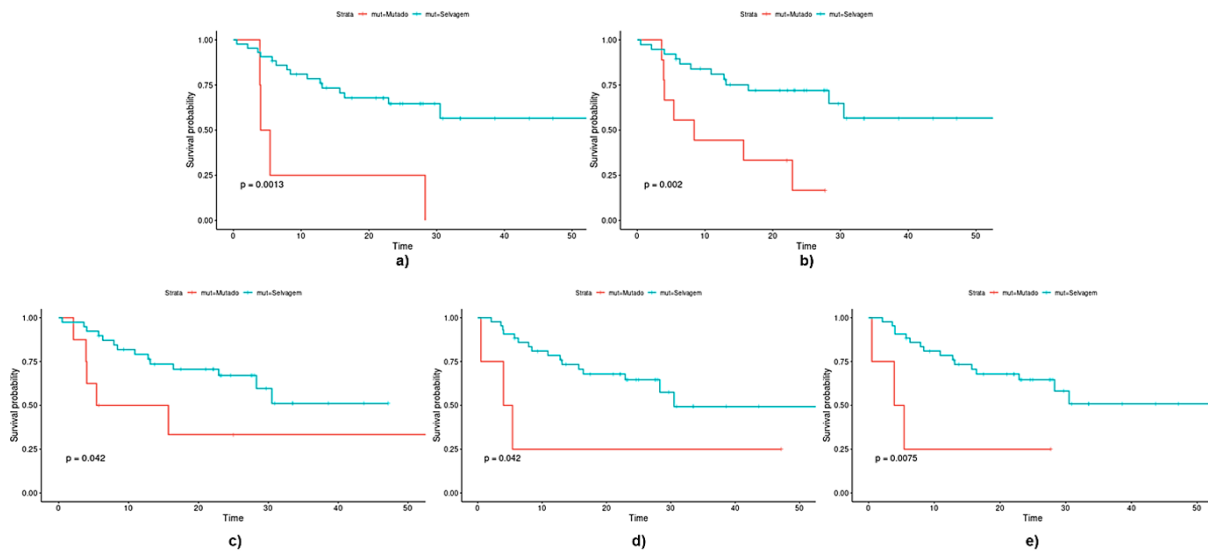


Fig. 6 Relationship of SNPs with the overall survival of GC patients who had a mutant allele of the ABCA family genes. The graph shows wild-type allele in blue and mutated allele in red, with the observed decrease in survival related to the mutant allele compared to wild-type – a) *ABCA1* rs2066714, b) *ABCA1* rs2230806, c) *ABCA6* rs7212506, d) *ABCA10* rs2886232 and e) *ABCA12* rs2274412

4 Discussion and Conclusion

The differential gene expression between groups of all genes of the *ABCA* family showed that the genes *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* and *ABCA9* showed significant differences in expression associated with cancer.

ABCA1 showed high expression and also association with tumor stage. It is known that the increased expression of *ABCA1* impacts on lipid homostasis mainly in relation to cholesterol, which contributes to the development and worsening of cancer, by favoring the proliferation and migration of neoplastic cells [7]. Furthermore, excessively increasing cholesterol transport out of the cell can be bad, as it causes accumulation of cholesterol on the outer side of the cell membrane, decreasing membrane fluidity and causing possible chemoresistance to cancer therapy [26, 27, 28], and the increased expression of this gene can therefore be considered a high-risk factor, correlated with a poor prognosis [9]. *ABCA1* was also associated with more advanced staging, which is related to patients with a lower percentage of survival and therapeutic failure, since stage I tumors are restricted to the organ of origin, while stage IV tumors have distant metastatic disease [29, 30, 31]. Several studies in the literature have demonstrated that *ABCA1* is significantly expressed in patients with advanced colorectal cancer [9], breast cancer [10], triple negative breast cancer (TNBC) [11], and in pancreatic cancer [13].

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Studies in the northern region of Brazil have shown an incidence of 9.6% [32] to 20% [33] of patients with GC infected with *EBV*. According to Tavakoli et al. [34], *EBV* infection is associated with a more than 18-fold increase in the risk of gastric cancer, with a higher prevalence in male patients. Noteworthy, the expression of the *ABCA1* gene was observed in the GC samples positive for this virus [35].

Intriguingly, *ABCA1* expression was inversely associated with the presence of *H. pylori*, a fact that reinforces the worst scenario linked to increased *ABCA1* expression, since, although this bacterium is an important factor linked to pre-neoplastic stages, current studies have reported the association, in the neoplastic tissue itself, of this bacterium with a relatively more favorable prognosis [36, 37, 38]. The favorable outcome of *H. pylori* positive patients implies that the host's immune system is modulated by *H. pylori*, increasing chemotherapeutic efficacy [39].

In this study, it was observed that *ABCA1* was positively correlated with expression of *CTSL* and *CTSK* genes. Previous research demonstrates that *CTSL* upregulation, a common occurrence in a variety of human cancers, has been widely correlated with metastatic aggressiveness and poor patient prognosis [40]. Furthermore, the high expression of *CTSK* is correlated with poor prognosis of GC in Asians, as it is closely related to the level of infiltration of inflammatory cells in the tumor microenvironment [41]. Our data demonstrated that isoforms 202 and 203 of the *ABCA1* gene showed increased expression in cancer samples. However, after neoadjuvant therapy, it was observed that the expression of these isoforms was decreased as a result of the drug action. This corroborates a study that indicated that high mRNA and *ABCA1* protein expression was significantly associated with poor patient outcomes, but treatment with apabetalone reduced *ABCA1* protein expression and increased sensitivity of resistant ovarian cancer cells to carboplatin [42], which reinforces the widely recognized role of *ABCA1* in multidrug resistance and the use of measuring its expression to predict response to anticancer drugs [43]. Thus, *ABCA1* isoforms (201, 203) have good potential to be used as chemoresistance biomarkers, where increased expression would be associated with this phenomenon.

Regarding the evaluation of polymorphisms of this gene, the rs2066714 and rs2230806 *ABCA1* variants were observed in the GC samples. These polymorphisms were associated with lower patient survival, probably due to the fact that these allelic variants confer, respectively, protein functional modification and alteration of control or stability of protein production, which leads to functional gains of this gene product [44].

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Decreased expression of the *ABCA6* gene was observed in this research, and interestingly, other studies have observed that decreased expression of this gene in grade I, II and III breast cancers [12], and in Ewing's sarcoma (EWS) is associated with cancer progression [8]. In this study, we also noticed that the SNPs rs7212506 of *ABCA6* is associated with a reduction in the survival, as well as the data found for *ABCA1*.

Like *ABCA6*, *ABCA8* showed low expression in gastric cancer when compared to adjacent tissue, and these findings corroborate other studies that observed that *ABCA8* is downregulated in different types of cancer, such as hepatocellular carcinoma (HCC), where downregulation can induce the transformation of epithelial into mesenchymal tissue through the ERK/ZEB1 signaling pathway and promote HCC progression [15]. Decreased expression was also observed in samples from patients with prostate cancer [16], human epithelial ovarian cancer cell line [14] and adenocarcinoma of the stomach [17].

ABCA8 showed increased expression under neoadjuvant therapy, which may represent benefits in drug response. In support of this finding, a study observed that the use of rapamycin was associated with overexpression of *ABCA8*, acting to inhibit the proliferation of breast cancer cells by regulating the AMPK/mTOR signaling pathway [45], reinforcing that increased expression of *ABCA8* by chemotherapy would indicate a better prognosis [15].

In the evaluation of genes with expression associated with *ABCA8*, a negative correlation was observed with the *S100A3* gene and a positive correlation with *ABCA6*. Although there are no reports of correlation of *ABCA8* with *S100A3*, it is known that increased expression of *S100A3* was observed in GC, in addition, its expression was associated with tumorigenesis, tumor aggressiveness and worse survival [46].

A decrease in *ABCA9* expression was also observed in this study, this behavior was also observed in other cancer models, such as breast cancer, correlated with poor prognosis [47]. As for the correlation with other genes, *ABCA9* showed a positive correlation with *GAGE1* and *ABCA13* and a negative correlation with *CTSL* and *ABCA1*. Low *GAGE* expression was significantly related to poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma [48]. Reduced expression of *ABCA13* was frequent in clear cell renal carcinomas [49].

Studies indicate that ABCA transporters have critical implications as biomarkers of risk and response in cancer [18], which corroborates our findings described in the ROC curve. Notably, the discovery of new biomarkers

1 and their application, along with traditional cancer diagnosis, staging and prognosis, will help to improve early
2 diagnosis and patient care [50].
3

4 In conclusion, *ABCA* family genes are deregulated in gastric cancer and some of them associated with
5 clinical aspects, such as *ABCA1* high expression that was positively associated with tumor stage and *EBV*, and
6 inversely associated with the presence of *H. pylori*; *ABCA1* and *ABCA6* polymorphism that was associated with
7 decreased survival; *ABCA8* and *9* low expression that was related to intestinal type, and neoadjuvant therapy that
8 was correlated with a significant increase in *ABCA8* expression, which would improve the prognosis of these
9 patients.
10

11 References

- 12 [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global
13 Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185
14 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
15
- 16 [2] INCA - BRASIL. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de
17 Janeiro: INCA, 2022. 160 p.: il. Disponível em:
18 <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>
19
- 20 [3] Ajani, J. A., D'Amico, T. A., Bentrem, D. J., Chao, J., Cooke, D., Corvera, C., Das, P., Enzinger, P. C., Enzler,
21 T., Fanta, P., Farjah, F., Gerdes, H., Gibson, M. K., Hochwald, S., Hofstetter, W. L., Ilson, D. H., Keswani, R. N.,
22 Kim, S., Kleinberg, L. R., Klemptner, S. J., ... Pluchino, L. A. (2022). Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN
23 Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*,
24 20(2), 167–192. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2022.0008>
25
- 26 [4] Johnston, F. M., & Beckman, M. (2019). Updates on Management of Gastric Cancer. *Current oncology*
27 *reports*, 21(8), 67. <https://doi.org/10.1007/s11912-019-0820-4>
28
- 29 [5] Portenoy, R. K., & Ahmed, E. (2018). Cancer Pain Syndromes. *Hematology/oncology clinics of North*
30 *America*, 32(3), 371–386. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2018.01.002>
31
- 32 [6] Rezaei, Z., Ranjbaran, J., Safarpour, H., Nomiri, S., Salmani, F., Chamani, E., Larki, P., Brunetti, O., Silvestris,
33 N., & Tavakoli, T. (2022). Identification of early diagnostic biomarkers via WGCNA in gastric cancer.
34 *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 145, 112477.
35 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112477>
36
- 37 [7] Lee, B. H., Taylor, M. G., Robinet, P., Smith, J. D., Schweitzer, J., Sehayek, E., Falzarano, S. M., Magi-
38 Galluzzi, C., Klein, E. A., & Ting, A. H. (2013). Dysregulation of cholesterol homeostasis in human prostate
39 cancer through loss of *ABCA1*. *Cancer research*, 73(3), 1211–1218. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3128>
40
- 41 [8] Pasello, M., Giudice, A. M., Cristalli, C., Manara, M. C., Mancarella, C., Parra, A., Serra, M., Magagnoli, G.,
42 Cidre-Aranaz, F., Grünewald, T. G. P., Bini, C., Lollini, P. L., Longhi, A., Donati, D. M., & Scotlandi, K. (2022).
43 *ABCA6* affects the malignancy of Ewing sarcoma cells via cholesterol-guided inhibition of the
44 *IGF1R/AKT/MDM2* axis. *Cellular oncology (Dordrecht)*, 45(6), 1237–1251. <https://doi.org/10.1007/s13402-022-00713-5>
45
- 46 [9] Aguirre-Portolés, C., Feliu, J., Reglero, G., & Ramírez de Molina, A. (2018). *ABCA1* overexpression worsens
47 colorectal cancer prognosis by facilitating tumour growth and caveolin-1-dependent invasiveness, and these
48

effects can be ameliorated using the BET inhibitor apabetalone. *Molecular oncology*, 12(10), 1735–1752. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12367>

[10] Park, S., Shimizu, C., Shimoyama, T., Takeda, M., Ando, M., Kohno, T., Katsumata, N., Kang, Y. K., Nishio, K., & Fujiwara, Y. (2006). Gene expression profiling of ATP-binding cassette (ABC) transporters as a predictor of the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast cancer research and treatment*, 99(1), 9–17. <https://doi.org/10.1007/s10549-006-9175-2>

[11] Pan, H., Zheng, Y., Pan, Q., Chen, H., Chen, F., Wu, J., & Di, D. (2019). Expression of LXR- β , ABCA1 and ABCG1 in human triple-negative breast cancer tissues. *Oncology reports*, 42(5), 1869–1877. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7279>

[12] Uddin, M. N., & Wang, X. (2022). Identification of key tumor stroma-associated transcriptional signatures correlated with survival prognosis and tumor progression in breast cancer. *Breast cancer (Tokyo, Japan)*, 29(3), 541–561. <https://doi.org/10.1007/s12282-022-01332-6>

[13] Mohelnikova-Duchonova, B., Brynychova, V., Oliverius, M., Honsova, E., Kala, Z., Muckova, K., & Soucek, P. (2013). Differences in transcript levels of ABC transporters between pancreatic adenocarcinoma and nonneoplastic tissues. *Pancreas*, 42(4), 707–716. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e318279b861>

[14] Liu, X., Gao, Y., Zhao, B., Li, X., Lu, Y., Zhang, J., Li, D., Li, L., & Yin, F. (2015). Discovery of microarray-identified genes associated with ovarian cancer progression. *International journal of oncology*, 46(6), 2467–2478. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2971>

[15] Cui, Y., Liang, S., Zhang, S., Zhang, C., Zhao, Y., Wu, D., Wang, J., Song, R., Wang, J., Yin, D., Liu, Y., Pan, S., Liu, X., Wang, Y., Han, J., Meng, F., Zhang, B., Guo, H., Lu, Z., & Liu, L. (2020). ABCA8 is regulated by miR-374b-5p and inhibits proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma through the ERK/ZEB1 pathway. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 39(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s13046-020-01591-1>

[16] Demidenko, R., Razanauskas, D., Daniunaite, K., Lazutka, J. R., Jankevicius, F., & Jarmalaite, S. (2015). Frequent down-regulation of ABC transporter genes in prostate cancer. *BMC cancer*, 15, 683. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1689-8>

[17] Guo, Y., Wang, Z. W., Su, W. H., Chen, J., & Wang, Y. L. (2020). Prognostic Value and Immune Infiltrates of ABCA8 and FABP4 in Stomach Adenocarcinoma. *BioMed research international*, 2020, 4145164. <https://doi.org/10.1155/2020/4145164>

[18] Pasello, M., Giudice, A. M., & Scotlandi, K. (2020). The ABC subfamily A transporters: Multifaceted players with incipient potentialities in cancer. *Seminars in cancer biology*, 60, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.10.004>

[19] Xiao, H., Zheng, Y., Ma, L., Tian, L., & Sun, Q. (2021). Clinically-Relevant ABC Transporter for Anti-Cancer Drug Resistance. *Frontiers in pharmacology*, 12, 648407. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.648407>

[20] Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 30(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>

[21] Patro, R., Duggal, G., Kingsford, C. (2015) Salmon: accurate, versatile and ultrafast quantification from RNA-Seq data using lightweight-alignment. *bioRxiv*, 9, 021592. <https://doi.org/10.1101/021592>

[22] R Core Team (2018) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org>

[23] Sonesson C, Love MI, Robinson MD (2015). “Differential analyses for RNA-seq: transcript-level estimates improve gene-level inferences.” *F1000Research*, 4. Doi:[10.12688/f1000research.7563.1](https://doi.org/10.12688/f1000research.7563.1)

[24] Kassambara A, Kosinski M, Biecek P. (2020) *Survminer: Drawing Survival Curves using “ggplot2”*. R package version 0.4.8. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/survminer/.2020>

- [25] Therneau. T.M. (2015) Mixed Effects Cox Models. BMC Genetics, 6, S127. <https://cran.microsoft.com/snapshot/2015-06-27/web/packages/survival/survival.pdf>
- [26] Zhao, W., Prijic, S., Urban, B. C., Tisza, M. J., Zuo, Y., Li, L., Tan, Z., Chen, X., Mani, S. A., & Chang, J. T. (2016). Candidate Antimetastasis Drugs Suppress the Metastatic Capacity of Breast Cancer Cells by Reducing Membrane Fluidity. *Cancer research*, 76(7), 2037–2049. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1970>
- [27] Szlasa, W., Zendran, I., Zalesińska, A., Tarek, M., & Kulbacka, J. (2020). Lipid composition of the cancer cell membrane. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 52(5), 321–342. <https://doi.org/10.1007/s10863-020-09846-4>
- [28] Alketbi, L., Al-Ali, A., Talaat, I. M., Hamid, Q., & Bajbouj, K. (2023). The Role of ATP-Binding Cassette Subfamily A in Colorectal Cancer Progression and Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1344. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms24021344>
- [29] Hu, B., El Hajj, N., Sittler, S., Lammert, N., Barnes, R., & Meloni-Ehrig, A. (2012). Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology. *Journal of gastrointestinal oncology*, 3(3), 251–261. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2078-6891.2012.021>
- [30] Piñeros, M., Parkin, D. M., Ward, K., Chokunonga, E., Ervik, M., Farrugia, H., ... Brierley, J. (2019). Essential TNM: a registry tool to reduce gaps in cancer staging information. *The Lancet Oncology*, 20(2), e103–e111. doi: [10.1016/s1470-2045\(18\)30897-0](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(18)30897-0)
- [31] Mantziari, S., St Amour, P., Abboretti, F., Teixeira-Farinha, H., Gaspar Figueiredo, S., Gronnier, C., Schizas, D., Demartines, N., & Schäfer, M. (2023). A Comprehensive Review of Prognostic Factors in Patients with Gastric Adenocarcinoma. *Cancers*, 15(5), 1628. <https://doi.org/10.3390/cancers15051628>
- [32] de Souza, C. R., de Oliveira, K. S., Ferraz, J. J., Leal, M. F., Calcagno, D. Q., Seabra, A. D., Khayat, A. S., Montenegro, R. C., Alves, A. P., Assumpção, P. P., Smith, M. C., & Burbano, R. R. (2014). Occurrence of *Helicobacter pylori* and Epstein-Barr virus infection in endoscopic and gastric cancer patients from Northern Brazil. *BMC gastroenterology*, 14, 179. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-14-179>
- [33] de Souza, C. R. T., Almeida, M. C. A., Khayat, A. S., da Silva, E. L., Soares, P. C., Chaves, L. C., & Burbano, R. M. R. (2018). Association between *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr virus, human papillomavirus and gastric adenocarcinomas. *World journal of gastroenterology*, 24(43), 4928–4938. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i43.4928>
- [34] Tavakoli, A., Monavari, S. H., Solaymani Mohammadi, F., Kiani, S. J., Armat, S., & Farahmand, M. (2020). Association between Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC cancer*, 20(1), 493. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07013-x>
- [35] Niller, H. H., Wolf, H., & Minarovits, J. (2009). Epigenetic dysregulation of the host cell genome in Epstein-Barr virus-associated neoplasia. *Seminars in cancer biology*, 19(3), 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2009.02.012>
- [36] Wang, F., Sun, G. P., Zou, Y. F., Zhong, F., Ma, T., Li, X. Q., & Wu, D. (2013). *Helicobacter pylori* infection predicts favorable outcome in patients with gastric cancer. *Current oncology (Toronto, Ont.)*, 20(5), e388–e395. <https://doi.org/10.3747/co.20.1417>
- [37] Barra, W. F., Sarquis, D. P., Khayat, A. S., Khayat, B. C. M., Demachki, S., Anaissi, A. K. M., Ishak, G., Santos, N. P. C., Dos Santos, S. E. B., Burbano, R. R., Moreira, F. C., & de Assumpção, P. P. (2021). Gastric Cancer Microbiome. *Pathobiology : journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, 88(2), 156–169. <https://doi.org/10.1159/000512833>
- [38] Jia, Z., Zheng, M., Jiang, J., Cao, D., Wu, Y., Zhang, Y., Fu, Y., & Cao, X. (2022). Positive *H. pylori* status predicts better prognosis of non-cardiac gastric cancer patients: results from cohort study and meta-analysis. *BMC cancer*, 22(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09222-y>

- 1 [39] Nishizuka, S. S., Tamura, G., Nakatochi, M., Fukushima, N., Ohmori, Y., Sumida, C., Iwaya, T., Takahashi,
2 T., Koeda, K., & Northern Japan Gastric Cancer Study Consortium (2018). Helicobacter pylori infection is
3 associated with favorable outcome in advanced gastric cancer patients treated with S-1 adjuvant chemotherapy.
4 Journal of surgical oncology, 117(5), 947–956. <https://doi.org/10.1002/jso.24977>
- 5 [40] Sudhan, D. R., & Siemann, D. W. (2015). Cathepsin L targeting in cancer treatment. Pharmacology &
6 therapeutics, 155, 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.08.007>
- 7 [41] Feng, Z., Qiao, R., Ren, Z., Hou, X., Feng, J., He, X., & Chen, D. (2020). Could CTSK and COL4A2 be
8 specific biomarkers of poor prognosis for patients with gastric cancer in Asia?-a microarray analysis based on
9 regional population. Journal of gastrointestinal oncology, 11(2), 386–401.
10 <https://doi.org/10.21037/jgo.2020.03.01>
- 11 [42] Wang, W., Lokman, N. A., Noye, T. M., Macpherson, A. M., Oehler, M. K., & Ricciardelli, C. (2021).
12 ABCA1 is associated with the development of acquired chemotherapy resistance and predicts poor ovarian cancer
13 outcome. Cancer drug resistance (Alhambra, Calif.), 4(2), 485–502. <https://doi.org/10.20517/cdr.2020.107>
- 14 [43] Wu, K., Zou, L., Lei, X., & Yang, X. (2022). Roles of ABCA1 in cancer. Oncology letters, 24(4), 349.
15 <https://doi.org/10.3892/ol.2022.13469>
- 16 [44] Chorley, B. N., Wang, X., Campbell, M. R., Pittman, G. S., Nouredine, M. A., & Bell, D. A. (2008).
17 Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current
18 and developing technologies. Mutation research, 659(1-2), 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.001>
- 19 [45] Lv, C., Yang, H., Yu, J., & Dai, X. (2022). ABCA8 inhibits breast cancer cell proliferation by regulating the
20 AMP activated protein kinase/mammalian target of rapamycin signaling pathway. Environmental toxicology,
21 37(6), 1423–1431. <https://doi.org/10.1002/tox.23495>
- 22 [46] Wang, C., Luo, J., Rong, J., He, S., Zhang, L., & Zheng, F. (2019). Distinct prognostic roles of S100 mRNA
23 expression in gastric cancer. Pathology, research and practice, 215(1), 127–136.
24 <https://doi.org/10.1016/j.prp.2018.10.034>
- 25 [47] Hwang, H. J., Lee, K. H., & Cho, J. Y. (2023). ABCA9, an ER cholesterol transporter, inhibits breast cancer
26 cell proliferation via SREBP-2 signaling. Cancer science, 114(4), 1451–1463. <https://doi.org/10.1111/cas.15710>
- 27 [48] Zambon, A., Mandruzzato, S., Parenti, A., Macino, B., Dalerba, P., Ruol, A., Merigliano, S., Zaninotto, G.,
28 & Zanovello, P. (2001). MAGE, BAGE, and GAGE gene expression in patients with esophageal squamous cell
29 carcinoma and adenocarcinoma of the gastric cardia. Cancer, 91(10), 1882–1888. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010515\)91:10<1882::AID-CNCR1210>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010515)91:10<1882::AID-CNCR1210>3.0.CO;2-H)
- 30 [49] Arai, E., Sakamoto, H., Ichikawa, H., Totsuka, H., Chiku, S., Gotoh, M., Mori, T., Nakatani, T., Ohnami, S.,
31 Nakagawa, T., Fujimoto, H., Wang, L., Aburatani, H., Yoshida, T., & Kanai, Y. (2014). Multilayer-omics analysis
32 of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. International journal of cancer,
33 135(6), 1330–1342. <https://doi.org/10.1002/ijc.28768>
- 34 [50] Baniak, N., Senger, JL., Ahmed, S. et al. Gastric biomarkers: a global review. World J Surg Onc 14, 212
35 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12957-016-0969-3>

Statements and Declarations

Conflict of interest

The authors declare no competing interests.

Ethics approval

The study was approved by the Research Ethics Committee (CAAE 47580121.9.0000.5634), and all participants signed an informed consent term accepting to participate in the study.

Availability of data and materials

The authors declare that all data supporting the results of this study are available in the article or by email from the corresponding author upon reasonable request.

Authors' contributions

Conceptualização do estudo: Daniele de Araújo Moysés, Fabiano Cordeiro Moreira, Sidney Emanuel Batista Dos Santos, Paulo Pimentel de Assumpção, André Salim Khayat. Article draft and write: Daniele de Araújo Moysés, Natasha Costa da Rocha Galucio, Thaissa Vitoria Portal Rodrigues, Taíssa Maíra Thomaz Araújo, Eliel Barbosa Teixeira, Bruna Cláudia Meireles Khayat and André Salim Khayat. Experimental analyses: Daniele de Araújo Moysés, Thaissa Vitoria Portal Rodrigues, Eliel Barbosa Teixeira, Jéssica Manoelli Costa da Silva. Bioinformatic and data analyses: Fabiano Cordeiro Moreira, Eliel Barbosa Teixeira, Jéssica Manoelli Costa da Silva. Laboratory and funding support: Sidney Emanuel Batista dos Santos and Paulo Pimentel de Assumpção. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito.

Authors and Affiliations

Institute of Biological Sciences, Federal University of Pará, Belém 66077-830, PA, Brazil

Bruna Cláudia Meireles Khayat and André Salim Khayat.

Oncology Research Center, Federal University of Pará, Belém 66073-005, PA, Brazil.

Daniele de Araújo Moysés, Fabiano Cordeiro Moreira, Natasha Costa da Rocha Galucio, Thaissa Vitoria Portal Rodrigues, Taíssa Maíra Thomaz Araújo, Eliel Barbosa Teixeira, Jéssica Manoelli Costa da Silva, Bruna Cláudia Meireles Khayat, Sidney Emanuel Batista Dos Santos, Paulo Pimentel de Assumpção, André Salim Khayat.

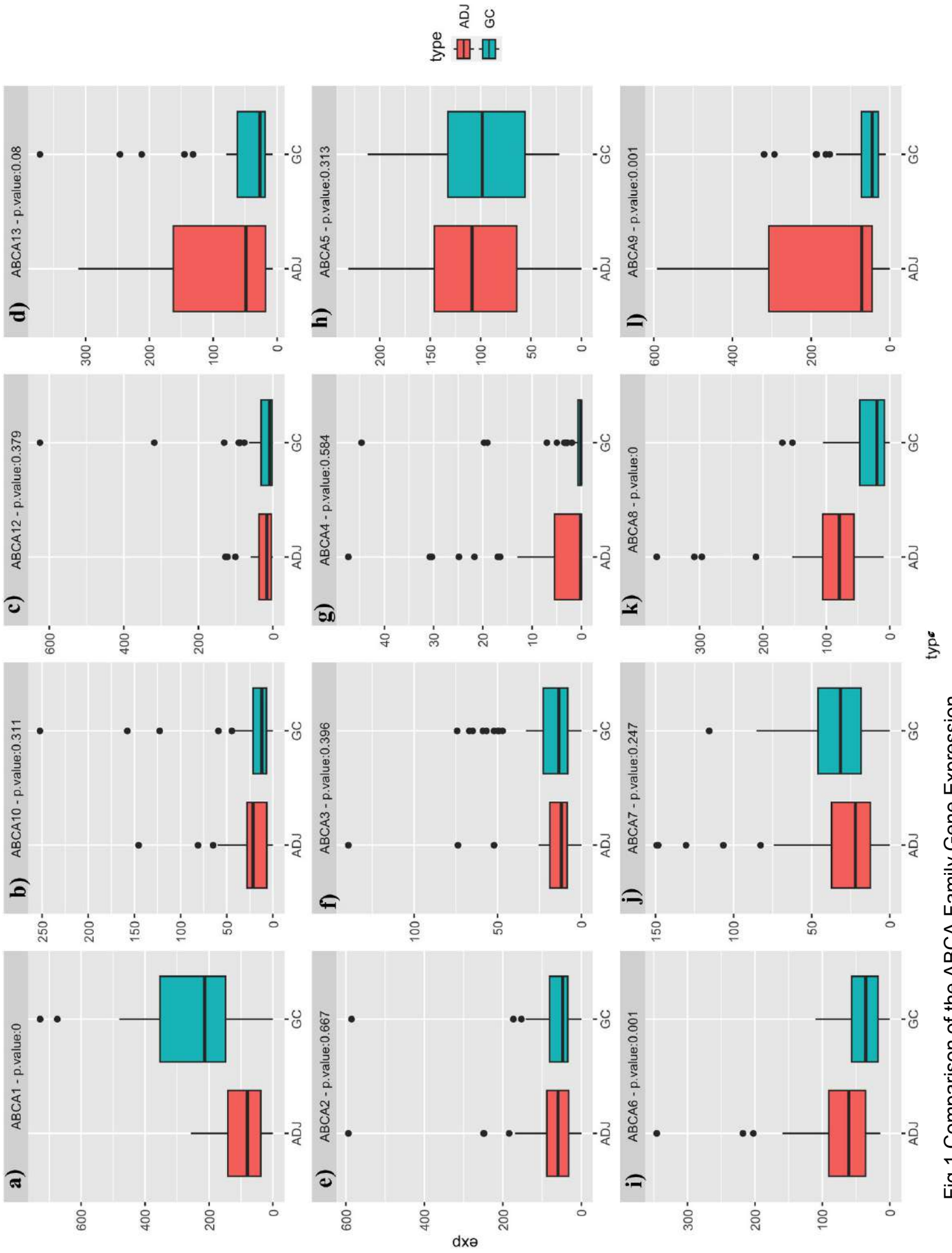


Fig 1 Comparison of the ABCA Family Gene Expression

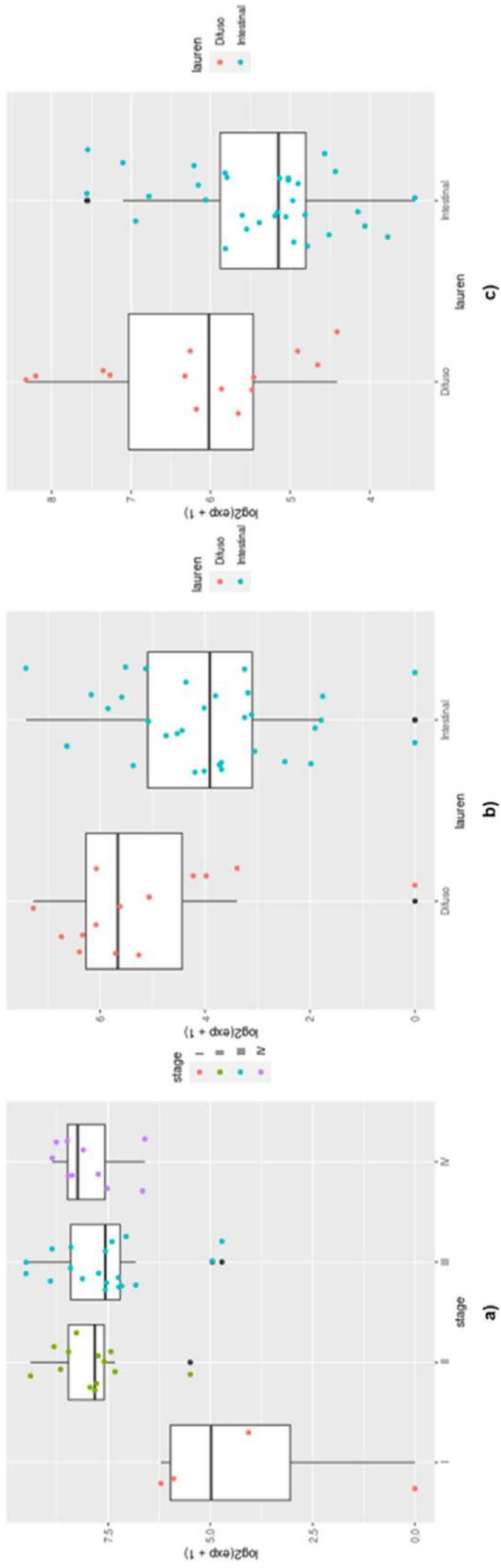
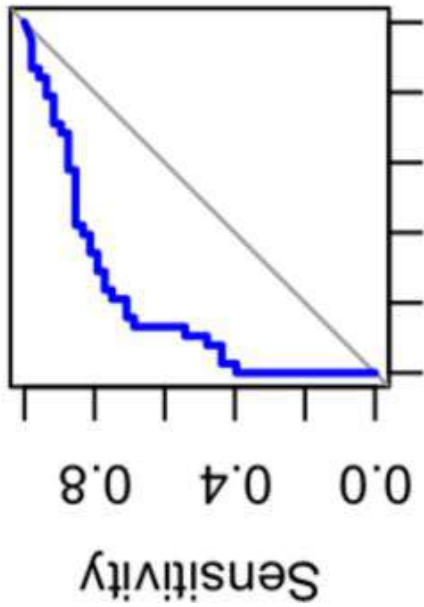


Fig 2 Association between gene expression of the ABCA

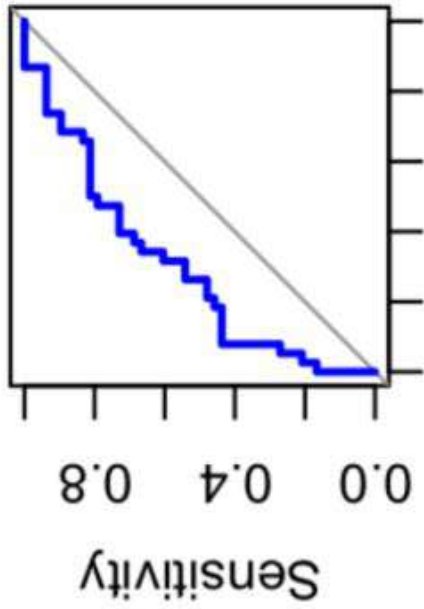
ABCA1



1.0 0.6 0.2

Specificity; auc=0.81

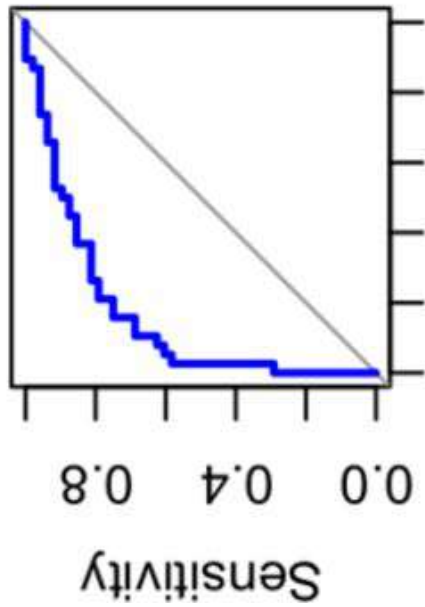
ABCA6



1.0 0.6 0.2

Specificity; auc=0.71

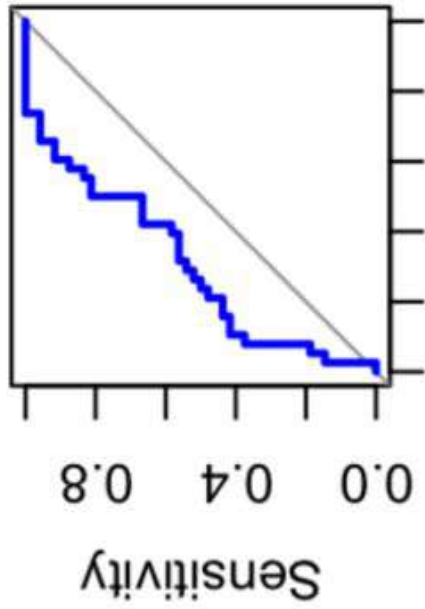
ABCA8



1.0 0.6 0.2

Specificity; auc=0.85

ABCA9



1.0 0.6 0.2

Specificity; auc=0.7

Fig 3 Characteristic curve of operation

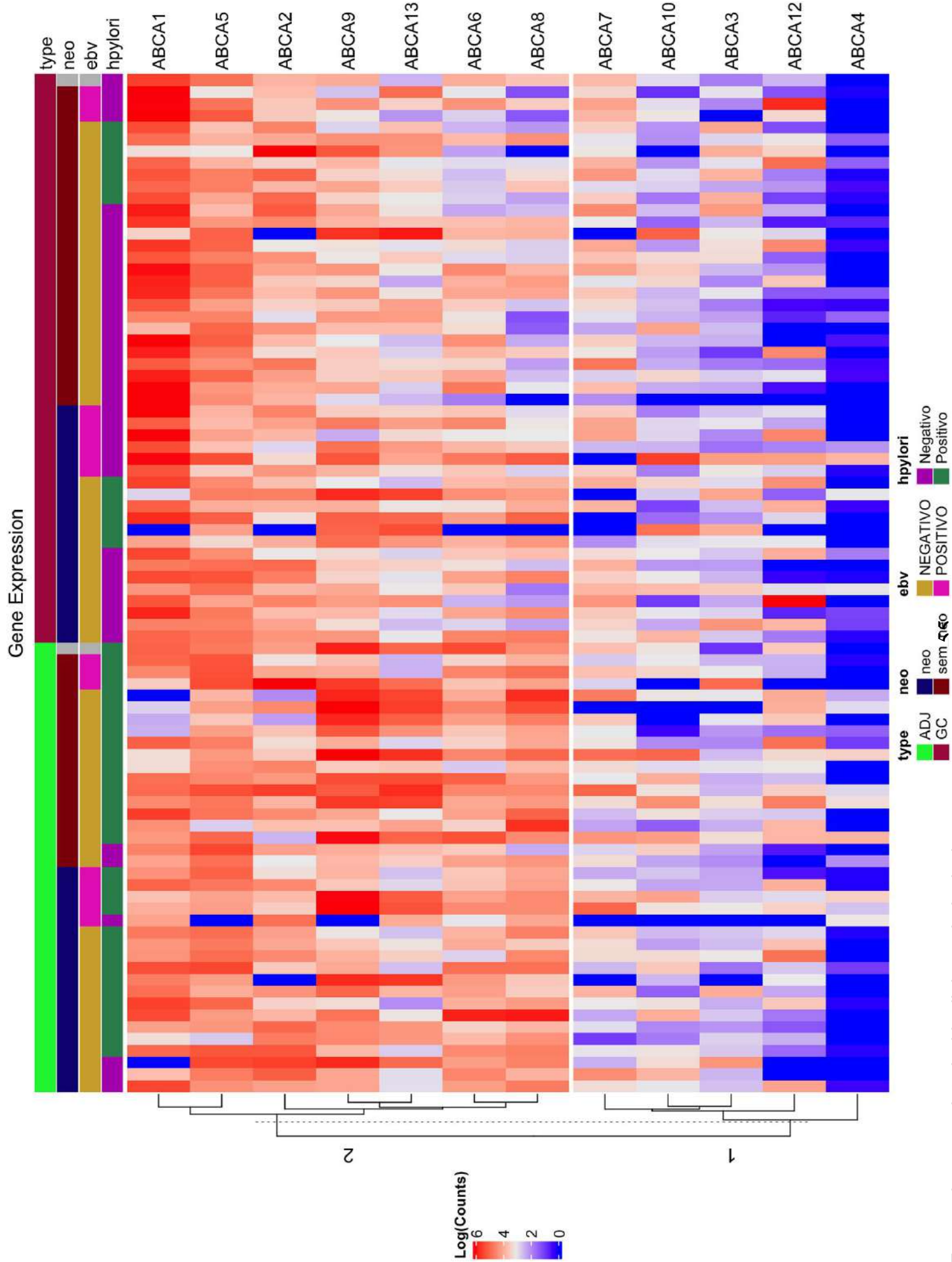


Fig 4 Expression associated with clinicopathological

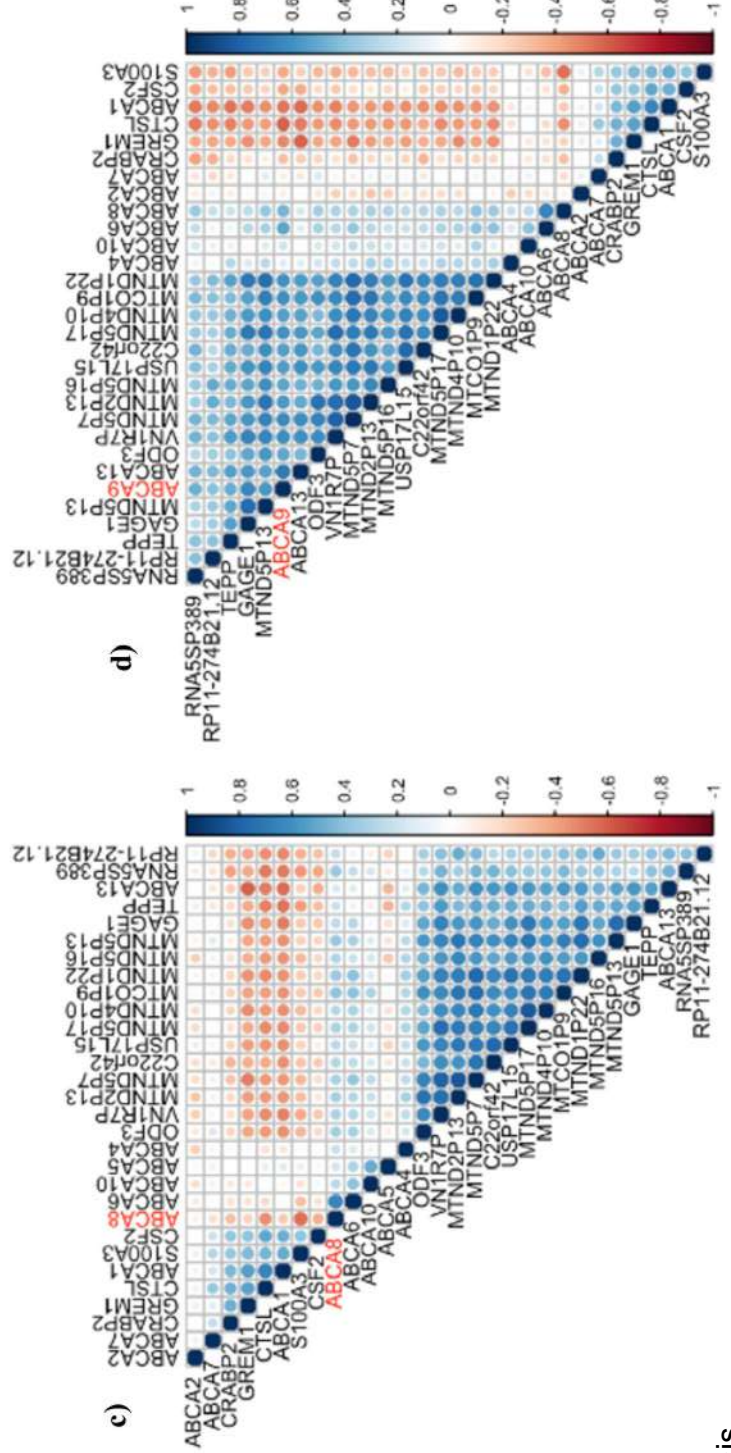
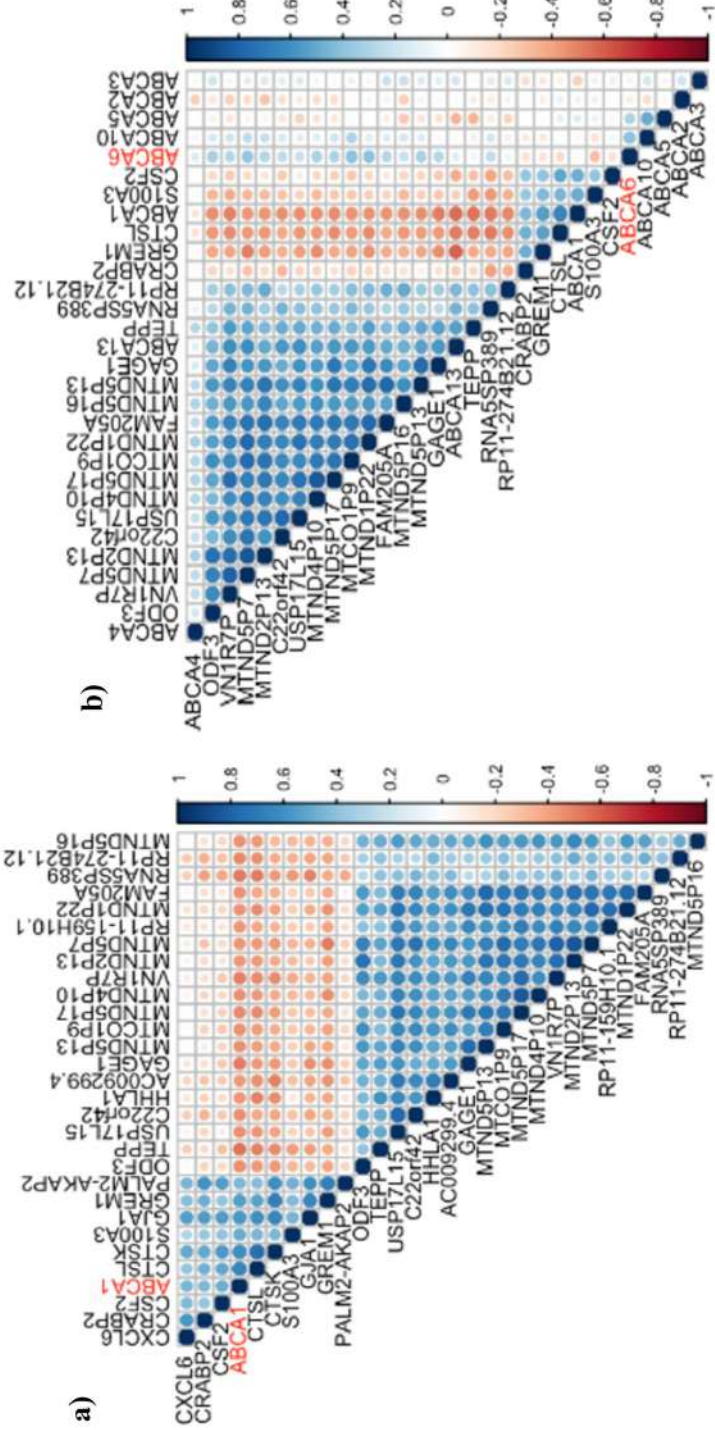
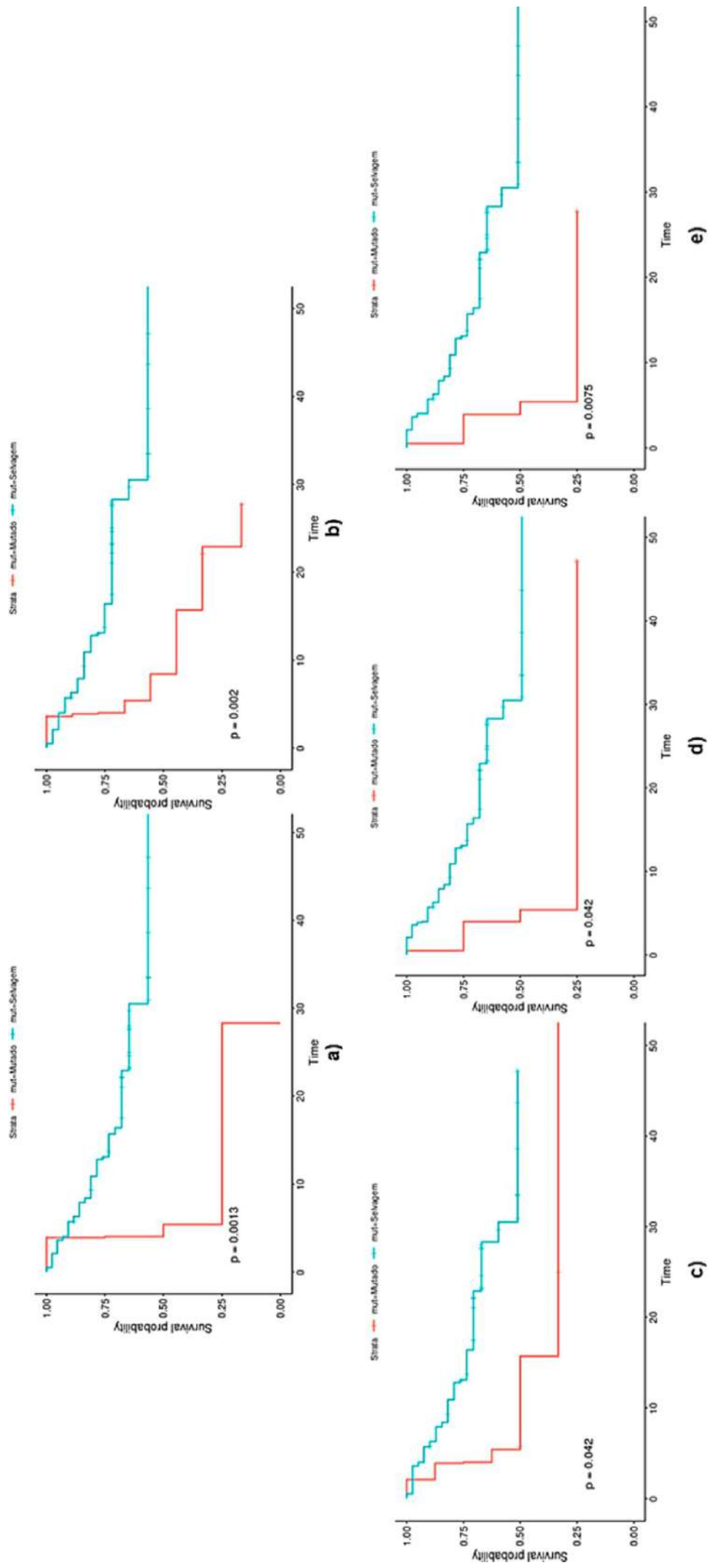


Fig 5 Correlative analysis



SUPPLEMENTARY INFORMATION

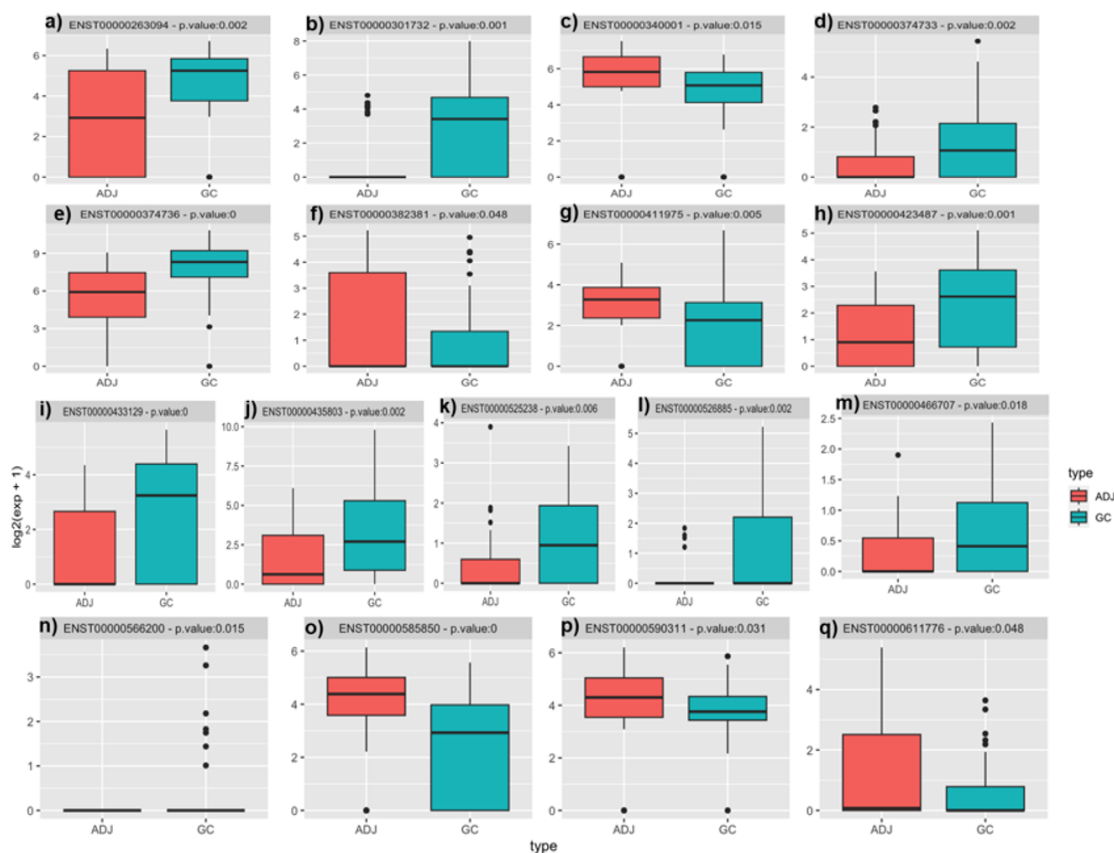


Fig. 1 Comparison of the expression profile of isoforms of the ABCA family genes in neoplastic and non-neoplastic gastric tissues. Ensemble of graphs illustrating the comparison of the expression of isoforms of the genes of the ABCA Family – a) ABCA7(201), b) ABCA3(201), c) ABCA9(201), d) ABCA(201), e) ABCA1(202), f) ABCA3(201), g) ABCA13(201), h) ABCA1(203), i) ABCA7(202), j) ABCA13(204), k) ABCA7(207), l) ABCA7(208), m) ABCA2(212), n) ABCA3(204), o) ABCA8(206), p) ABCA6(205), q) ABCA13(208) - in neoplastic and non-neoplastic gastric tissues, with gene expression values plotted on a scale corresponding to messenger RNA (mRNA) levels

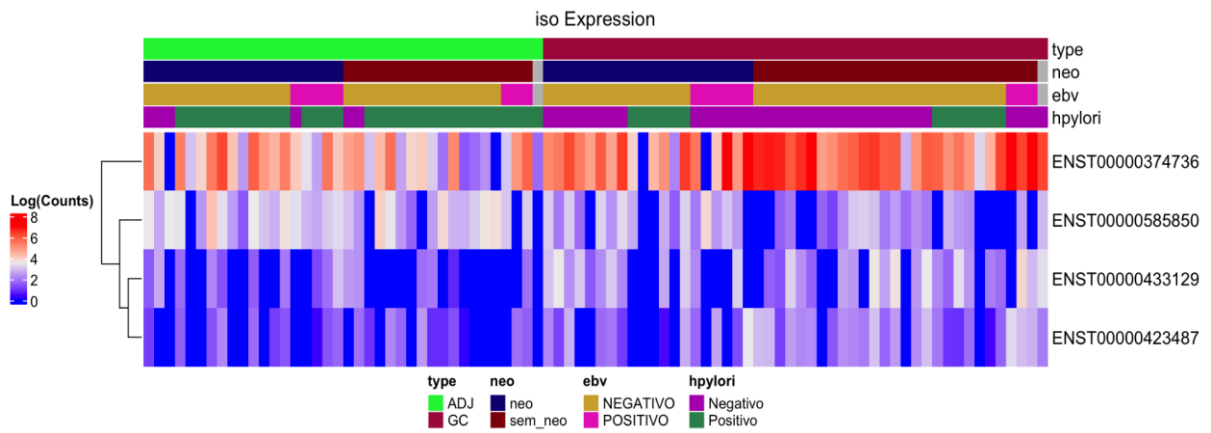


Fig. 2 Expression of isoforms of the ABCA family genes associated with clinicopathological conditions in GC. Heat map associating the level of expression of isoforms *ABCA1* (202, 203), *ABCA7* (202) and *ABCA8* (206) with clinicopathological characteristics, such as: type, use or not of neoadjuvant therapy and positive or negative for infections by *EBV* and *H. Pylori*.

4 DISCUSSÃO

As alterações de expressão gênica podem ser relacionadas à ocorrência ou ao desenvolvimento de doenças como o câncer, podendo ter valor na avaliação prognóstica e auxiliar a condução de terapia. Assim, os achados obtidos por comparação com tecidos não-neoplásicos ou entre os diferentes aspectos clínicos dos pacientes, possibilitam rastrear biomarcadores específicos e fornecer subsídios para o entendimento do processo de carcinogênese (Xue et al., 2022).

Nesse estudo, a expressão gênica diferencial (entre tecido tumoral e tecido adjacente gástrico) de todos os genes da família *ABCA* evidenciaram que os genes *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* e *ABCA9* apresentaram diferenças significativas de expressão associadas ao câncer (figura 1 do capítulo I).

O *ABCA1* apresentou expressão elevada (figura 1a do capítulo I) e, ainda, associação com o estadiamento tumoral (figura 2a do capítulo I). É sabido que o aumento da expressão de *ABCA1* impacta na homeostase lipídica, principalmente em relação ao colesterol, o que contribui para desenvolvimento e para o agravamento do câncer, por favorecer a proliferação e migração de células neoplásicas (Lee et al., 2013). Além disso, o aumento excessivo do transporte de colesterol para fora da célula pode ser ruim, pois causa acúmulo de colesterol no lado externo da membrana, diminuindo sua fluidez e causando uma possível quimiorresistência a terapia do câncer (Alketbi et al., 2023; Szlasa et al., 2020; Zhao et al., 2016).

O aumento da expressão desse gene pode ser considerado assim um fator de alto risco, correlacionado a um mau prognóstico (Aguirre-Portolés et al., 2018). *ABCA1* foi também associado a estadiamentos mais avançados, o que está relacionado a com pacientes apresentando menor porcentagem de sobrevida e insucessos terapêuticos, visto que os tumores de estágio I são restritos ao órgão de origem, enquanto tumores em estágio IV têm doença metastática a distância (Hu et al., 2012; Mantziari et al., 2023; Piñeros et al., 2019).

Na direção destes fatos, foi observado que *ABCA1* é significativamente expresso em pacientes em estágios avançados de câncer colorretal (Aguirre-Portolés et al., 2018), no câncer de mama (Park et al., 2006), em tecidos de câncer de mama triplo negativo (TNBC) (Pan et al., 2019), e no câncer pancreático (Mohelnikova-Duchonova et al.,

2013). Diante disso, o *ABCA1* pode ser um oncogene importante, inclusive, já foi considerado um novo alvo em câncer de tireoide com metástase pulmonar (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020; Park et al., 2023). De fato, estudos evidenciam também que a superexpressão de *ABCA1* pode contribuir para o crescimento do tumor primário e disseminação para locais distantes (Aguirre-Portolés et al., 2018) e está associada ao aumento da metástase (Zhao et al., 2016).

Outro fator aqui associado ao *ABCA1* no desenvolvimento de CG foi a presença do vírus *Epstein-Barr (EBV)*, foi observado aumento da expressão do gene *ABCA1* nas amostras de CG positivas para o vírus (figura 4 do capítulo I), visto que a modulação da expressão gênica pode acontecer sobre influência de *EBV*, porém, não foram encontrados estudos na literatura que tenha avaliado a modulação de *ABCA1* e sua relação com *EBV*.

A infecção por *EBV* está associada a um aumento de mais de 18 vezes no risco de CG, sendo sua prevalência maior em pacientes do sexo masculino (Tavakoli et al., 2020). A nível mundial, aproximadamente 10% dos carcinomas gástricos estão associados ao *EBV* (Boysen et al., 2009), no entanto, na América, a prevalência do carcinoma gástrico associado ao *EBV* é de 11,4% (Carrasco-Avino et al., 2017). Estudos na região norte do Brasil apresentaram incidência de 9,6% (De Souza et al., 2014) a 20% (Souza et al., 2018) dos pacientes com CG.

As amostras de CG positivadas para *H. pylori* apresentaram expressão diminuída de *ABCA1* (figura 4 do capítulo I), fato que reforça um melhor cenário, pois embora esta bactéria seja um importante fator vinculado as etapas pré-neoplásica, estudos mais atuais têm relatado a associação, no tecido neoplásico em si, desta bactéria a um prognóstico relativamente mais favorável (Barra et al., 2021; Jia et al., 2022; Wang et al., 2013). O resultado favorável de pacientes positivos para *H. pylori* implica que o sistema imunológico do hospedeiro é modulado por *H. pylori* aumentando a eficácia quimioterapêutica (Nishizuka et al., 2018).

Alguns genes podem apresentar correlação positiva ou negativa da expressão em diversos tipos de câncer e, neste estudo, observamos a correlação dos genes *CTSL*, *CTSK*, *GJAI*, *TEPP*, *GAGE1* e *SI00A3* com os genes da família ABCA. Em tecidos normais de estômago esses genes apresentam baixa expressão (Fagerberg et al., 2014).

O gene *CTSL* codifica a proteína catépsina L (CTSL), uma cisteína protease endolisossomal, que desempenha um papel importante no catabolismo proteico intracelular. Esse gene, quando apresenta uma superexpressão, está associada à sobrevida inferior de pacientes com várias malignidades humanas, além disso, a desregulação de *CTSL* foi implicado na regulação da angiogênese e invasão durante a progressão do câncer. No CG, alta expressão de *CTSL* com baixa expressão de *ZBTB7B* foi associado com alto risco (Cui et al., 2022; Gene – NCBI, 2023; Pandey et al., 2018).

A catépsina K (CTSK) é uma cisteína protease que geralmente apresenta forte atividade de degradação da matriz extracelular e está relacionada à destruição óssea mediada por osteoclastos (Gene – NCBI, 2023). A proteína codificada pelo gene *CTSK* também é expressa numa fração significativa de câncer de mama, próstata e CG onde poderia contribuir para a capacidade de invasão do tumor (Feng et al., 2020; Gene – NCBI, 2023; Wu et al., 2022). O gene *GJA1* é um membro da família dos genes da conexina. A proteína codificada é um componente de junções comunicantes, que são compostas por arranjos de canais intercelulares que fornecem uma rota para a difusão de materiais de baixo peso molecular de célula para célula (Gene – NCBI, 2023).

Neste estudo, foi observado que o *ABCA1* apresentou correlação positiva com a expressão dos genes *CTSL*, *CTSK* e *GJA1* e regulação negativa com os genes *TEPP* e *GAGE1* (figura 5a do capítulo I). Pesquisas anteriores demonstram que a regulação positiva de *CTSL*, uma ocorrência comum em uma variedade de cânceres humanos, tem sido amplamente correlacionada com agressividade metastática e mau prognóstico do paciente (Sudhan; Siemann, 2015). Além disso, a alta expressão de *CTSK* está correlacionado com mau prognóstico de CG em asiáticos, por apresentar estreita relação com o nível de infiltração de células inflamatórias em microambiente tumoral (TME) (Feng et al., 2020). A alta expressão de *GJA1* poderia indicar mau prognóstico e que pode ser um preditor independente de sobrevida global ruim (Meng et al., 2020).

O gene *SPMIP8* conhecido também como *TEPP*, codifica a proteína interna 8 do microtúbulo do esperma (Gene – NCBI, 2023). Em uma análise de rede de co-expressão de genes metastáticos em câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) foi observado baixa expressão de *TEPP* e esse comportamento também está correlacionado com outras doenças como Doença de Crohn e doenças inflamatórias intestinais

(Mortezaei; Tavallaei; Hosseini, 2019). *TEPP* foi sugerido como biomarcador importante nos cânceres de próstata, mama e ovário (Zhou et al., 2021).

O gene *GAGE1* (Antígeno G 1) pertence a uma família de genes que são expressos em vários tumores, mas dificilmente em tecidos normais, apresentando baixa expressão em tecido normal de estômago e alta expressão nos testículos (Gene – NCBI, 2023). Um estudo indicou que a expressão de *GAGE* foi bastante baixa em carcinoma esofágico escamoso e adenocarcinoma, relacionando-se com um mau prognóstico (Zambon et al., 2001).

A diminuição da expressão do gene *ABCA6* foi observada nesta pesquisa, em amostras de CG, o que pode estar relacionado a um cenário ruim (figura 1i do capítulo I). Corroborando nossos achados, outros estudos observaram que a diminuição da expressão desse gene em cânceres de mama de grau I, II e III (Uddin; Wang, 2022), e em sarcoma de Ewing (EWS) está associada a progressão do câncer (Pasello et al., 2022). Entende-se que a baixa expressão de *ABCA6* está relacionada a um aumento de colesterol intracelular (Pasello et al., 2022).

Assim como o *ABCA6*, o *ABCA8* apresentou baixa expressão em câncer gástrico quando comparado com tecido adjacente (figura 1k do capítulo I), dessa forma, nossos achados corroboram com outros estudos que observaram que o *ABCA8* é regulado negativamente em diferentes tipos de câncer, como o carcinoma hepatocelular (CHC), tanto em tecidos quanto em linhagens celulares de CHC quando comparadas a tecidos não tumorais adjacentes e células hepáticas normais. Também foi observado a expressão diminuída em amostras de pacientes com câncer de próstata (Demidenko et al., 2015), em linhagem celular de câncer de ovário epitelial humano (Liu et al., 2015), em amostras de pacientes com carcinoma de células escamosas da língua (Ye et al., 2008) e adenocarcinoma do estômago (Guo et al., 2020).

Em CHC, essa regulação negativa pode induzir a transformação de tecido epitelial em mesênquimal por meio da via de sinalização ERK/ZEB1 e promover a progressão do CHC, uma vez que a fosforilação de ERK é crítica para a sua progressão induzida por *ABCA8*. Essa baixa expressão pode ser regulada por MiR-374b-5p que tem como alvo direto o *ABCA8* e está relacionado a mau prognóstico, assim como sua superexpressão

foi correlacionada com o prognóstico favorável de pacientes com carcinoma hepatocelular (Cui et al., 2020).

O *ABCA8* apresentou aumento da expressão sob terapia neoadjuvante (figura 4 capítulo I), o que pode representar benefícios na resposta a fármacos. Em apoio a este achado, um estudo observou que o uso da rapamicina esteve associada a superexpressão de *ABCA8*, atuando na inibição da proliferação de células de câncer de mama por regulação da via de sinalização AMPK/mTOR (Lv et al., 2022), reforçando que o aumento da expressão de *ABCA8* pela quimioterapia indicaria melhor prognóstico (Cui et al., 2020).

Na avaliação de genes com expressão associada a *ABCA8* (figura 5c do capítulo I), observou-se uma correlação negativa com o gene *S100A3* e positiva com o *ABCA6*. Quanto à associação entre *ABCA6* e *ABCA8*, ambos são concomitantemente menos expressos em adenocarcinoma pulmonar (LUAD) (Yang et al., 2022), o que pode estar relacionado a um pior quadro clínico ao paciente.

O gene *S100A3* codifica a Proteína A3 de ligação ao cálcio S100, que estão localizadas no citoplasma e/ou núcleo de uma ampla gama de células, e envolvidas na regulação de vários processos celulares, como progressão e diferenciação do ciclo celular (Gene – NCBI, 2023). Embora não se tenha relatos de correlação do *ABCA8* com *S100A3*, sabe-se que o aumento da expressão de *S100A3* foi observada em CG (Wang et al., 2019), carcinoma hepatocelular (CHC) (Tao et al., 2017), câncer do SNC (Sistema Nervoso Central) e Glioblastoma (GBM) (Zhang et al., 2021), além disso, sua expressão foi associada à tumorigênese, à agressividade do tumor e a pior sobrevida (Tao et al., 2017; Wang et al., 2019).

Nas amostras de CG, de acordo com o subtipo de Laurén, foi observado que os genes *ABCA8* e o *ABCA9* apresentaram expressão diminuída no tipo intestinal (figura 2b e 2c do capítulo I), sendo o subtipo dominante nas áreas de alto risco (Ilic; Ilic, 2022). Esse comportamento da diminuição da expressão desses genes pode ser um cenário ruim aos pacientes por estar relacionado a mau prognóstico e diminuição de sobrevida (Cui et al., 2020; Zhang et al., 2020b; Hwang; Lee; Cho, 2023).

Foi observado neste estudo a diminuição da expressão *ABCA9* (figura 11 do capítulo I), esse comportamento também foi observado em outros modelos de câncer,

como Câncer Epitelial de Ovário (EOC) (Elsnerova et al., 2017), carcinomas colorretais (Hlavata et al., 2012), em adenocarcinoma pulmonar (LUAD) (Yang et al., 2022) e no câncer de mama, correlacionando-se com mau prognóstico neste último (Hwang; Lee; Cho, 2023), além disso, *ABCA8* e *ABCA9* foram regulados negativamente em pacientes com carcinoma hepatocelular (CHC) indicando tempo de sobrevida significativamente menor nesse tipo de câncer (Zhang et al., 2020b).

Nesta pesquisa, o *ABCA9* apresentou correlação positiva com *GAGE1*, *ABCA13* e correlação negativa com *CTSL* e *ABCA1* nas amostras de CG (figura 4d do capítulo I), o que pode indicar um quadro clínico ruim, pois em outro estudo, foi observado que a baixa expressão de *GAGE* foi significativamente relacionada a um mau prognóstico em carcinoma esofágico escamoso e adenocarcinoma (Zambon et al., 2001). A expressão reduzida de *ABCA13* foi frequente em carcinomas renais de células claras (Arai et al., 2014). Já a regulação positiva dos genes *CTSL* e *ABCA1* tem sido associada a possibilidade de metástase e mau prognóstico do paciente (Aguirre-Portolés et al., 2018; Sudhan; Siemann, 2015; Zhao et al., 2016).

Em relação as isoformas, notou-se que 202 e 203 do gene *ABCA1* apresentaram expressão aumentada no câncer, no entanto, sob a ação da terapia neoadjuvante observou-se uma diminuição da expressão (figura 1 do Informação Suplementar e Tabela 1 do capítulo I). Este fato corrobora o estudo que indicou que a alta expressão de mRNA e proteína de *ABCA1* estava significativamente associada a resultados ruins para o paciente, mas o tratamento com apabetalona reduziu a expressão da proteína *ABCA1* e aumentou a sensibilidade das células de câncer de ovário resistentes à carboplatina (Wang et al., 2021), pois o papel de *ABCA1* na resistência a múltiplas drogas tem sido amplamente reconhecido e a medição da sua expressão pode ser usada para prever a resposta a drogas anticancerígenas (Wu et al., 2022).

Cabe ressaltar ainda, que a isoforma 206 do gene *ABCA8* também apresentou alteração quanto a expressão sob a influência da terapia neoadjuvante, observando-se um aumento (tabela 01 e figura 2 – Informação Suplementar do capítulo I). Assim, as isoformas *ABCA1* (201, 203) e *ABCA8* (206) têm bom potencial para serem usadas como biomarcadores de quimiorresistência, onde o aumento da expressão estaria associado a este fenômeno.

Mutações nos genes do transportador ABCA demonstraram resultar em doenças hereditárias envolvendo processos fisiológicos importantes nos sistemas cardiovascular, respiratório, visual e tegumentar. Evidências acumuladas sugerem que os transportadores ABCA desempenham papéis críticos na patogênese de distúrbios multifatoriais complexos com alta incidência; como aterosclerose, degeneração macular relacionada à idade e doença de Alzheimer (Piehler et al., 2007).

A terapia direcionada para variações genéticas específicas e moléculas a montante ou a jusante podem ajudar a melhorar o prognóstico do paciente, assim como abordagens terapêuticas que visam reduzir a viabilidade celular, induzir apoptose e aumentar a sensibilidade aos medicamentos (Modi et al., 2022). Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em alguns loci gênicos são úteis como marcadores de risco individual para reações adversas a medicamentos ou suscetibilidade a doenças complexas (Iida et al., 2002).

Nesse sentido, quanto a avaliação de polimorfismos, destacamos os SNPs dos genes *ABCA1* e *ABCA6*, pois apresentaram correlação com outros aspectos nesse estudo. As variantes rs2066714 e rs2230806 do *ABCA1* com MAF de 0.0909 e 0.25, respectivamente, e rs7212506 do *ABCA6* com MAF de 0.2045, correlacionaram-se com diminuição de sobrevida global (figura 6 do capítulo I) nas amostras de CG. Ambos os polimorfismos foram associados a menor sobrevida dos pacientes, provavelmente pelo fato de que estas variantes alélicas confirmam, respectivamente, modificação funcional proteica e alteração de controle ou estabilidade de produção proteica, que acarretam em ganhos funcionais deste produto gênico.

Na presente pesquisa, também observamos que na avaliação da curva ROC (figura 3 do capítulo I), onde a área sob a curva (AUC) foi igual ou maior que 0.7 para alguns dos genes da família ABCA, evidenciando assim que esses achados têm boa força para serem usados como biomarcadores de câncer gástrico, sendo úteis para detecção das alterações por vários métodos de biologia molecular, patologia ou mesmo análise de CTC (circulating tumor cell).

De fato, alguns estudos apontam que os transportadores ABCA têm implicações críticas como biomarcadores de risco e resposta em cânceres (Pasello; Giudice; Scotlandi, 2020). Notoriamente, a descoberta de novos biomarcadores e sua aplicação, em conjunto

com o diagnóstico, estadiamento e prognóstico tradicionais do câncer, ajudará a melhorar o diagnóstico precoce e o atendimento ao paciente (Baniak et al., 2016).

Em conclusão, nossos dados mostram que o *ABCA1* apresentou expressão elevada associada com o estágio tumoral e com *EBV*, mas sua expressão foi inversamente associada a presença de *H. pylori*, além de polimorfismos relacionados a diminuição de sobrevida. O *ABCA6* apresentou baixa expressão e polimorfismo associado a diminuição de sobrevida. O *ABCA8* e *9* apresentaram baixa expressão que é prognóstico ruim, e se concentra no tipo intestinal em CG, porém quando foi aplicada a neoadjuvância aumentou a expressão do *ABCA8* de maneira significativa que melhoraria o prognóstico desses pacientes. Esses dados sugerem que *ABCA1*, *ABCA6*, *ABCA8* e *ABCA9* têm grande potencial para serem biomarcadores no câncer gástrico, e que esses genes são relevantes para a compreensão da gênese, progressão e resposta terapêutica do câncer gástrico.

REFERÊNCIAS

AGUIRRE-PORTOLÉS, C. et al. ABCA1 overexpression worsens colorectal cancer prognosis by facilitating tumour growth and caveolin-1-dependent invasiveness, and these effects can be ameliorated using the <scp>BET</scp> inhibitor apabetalone. **Molecular Oncology**, v. 12, n. 10, p. 1735–1752, 17 out. 2018.

AJANI, J. A. et al. Gastric Cancer, Version 2.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, v. 20, n. 2, p. 167–192, fev. 2022.

ALAM, A.; LOCHER, K. P. Structure and Mechanism of Human ABC Transporters. **Annual review of biophysics**, v. 52, p. 275–300, 9 maio 2023.

ALBRECHT, C.; VITURRO, E. The ABCA subfamily--gene and protein structures, functions and associated hereditary diseases. **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, v. 453, n. 5, p. 581–9, fev. 2007.

ALKETBI, L. et al. The Role of ATP-Binding Cassette Subfamily A in Colorectal Cancer Progression and Resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 1344, 10 jan. 2023.

ALLA, V. et al. E2F1 confers anticancer drug resistance by targeting ABC transporter family members and Bcl-2 via the p73/DNp73-miR-205 circuitry. **Cell Cycle**, v. 11, n. 16, p. 3067–3078, 15 ago. 2012.

ANNILO, T. et al. Identification and characterization of a novel ABCA subfamily member, ABCA12, located in the lamellar ichthyosis region on 2q34. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 98, n. 2–3, p. 169–176, 2002.

AMERICAN CANCER SOCIETY. 2019. Disponível em: <http://www.cancer.org/cancer/stomachcancer/detailedguide/stomach-cancer-risk-factors>. Acessado em: 20 de junho de 2019.

ARAI, E. et al. Multilayer-omics analysis of renal cell carcinoma, including the whole exome, methylome and transcriptome. **International Journal of Cancer**, v. 135, n. 6, p. 1330–1342, 15 set. 2014.

ASSUMPÇÃO, P. P.; BURBANO, R. R. Genética e câncer gástrico. In: Linhares E, Laércio L, Takeshi S (editores). *Atualização em Câncer-Gástrico*. 1o ed. São Paulo: Tecmed Editora. 2005.

BACHMEIER, B. E. et al. Overexpression of the ATP binding cassette gene ABCA1 determines resistance to Curcumin in M14 melanoma cells. **Molecular Cancer**, v. 8, n. 1, p. 129, 2009.

BANIAK, N. et al. Gastric biomarkers: a global review. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 14, n. 1, p. 212, 11 dez. 2016.

BARRA, W. F. et al. Gastric Cancer Microbiome. **Pathobiology**, v. 88, n. 2, p. 156–169, 2021.

BENLHABIB, H. et al. The miR-200 Family and Its Targets Regulate Type II Cell Differentiation in Human Fetal Lung. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 37, p. 22409–22422, set. 2015.

BIAN, X. et al. Lipid metabolism and cancer. **Journal of Experimental Medicine**, v. 218, n. 1, 4 jan. 2021.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 69(3), 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>

BOYSEN, T. et al. EBV-associated gastric carcinoma in high- and low-incidence areas for nasopharyngeal carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 101, n. 3, p. 530–533, 14 ago. 2009.

BU, P. et al. Identification of ABCA5 among ATP-Binding Cassette Transporter Family as a New Biomarker for Colorectal Cancer. **Journal of Oncology**, v. 2022, p. 1–14, 22 jun. 2022.

- BUSUTTIL, R. A. et al. Role of p53 in the progression of gastric cancer. **Oncotarget**, v. 5, n. 23, p. 12016–12026, 15 dez. 2014.
- CALCAGNO, D. Q. et al. MYC, FBXW7 and TP53 copy number variation and expression in Gastric Cancer. **BMC Gastroenterology**, v. 13, n. 1, p. 141, 23 dez. 2013.
- CARINO, A. et al. Analysis of Gastric Cancer Transcriptome Allows the Identification of Histotype Specific Molecular Signatures With Prognostic Potential. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 3 maio 2021.
- CARRASCO-AVINO, G. et al. The conundrum of the Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in the Americas. **Oncotarget**, v. 8, n. 43, p. 75687–75698, 26 set. 2017.
- CERAMI, E. et al. The cBio Cancer Genomics Portal: An Open Platform for Exploring Multidimensional Cancer Genomics Data. **Cancer Discovery**, v. 2, n. 5, p. 401–404, 1 maio 2012.
- CHAPUY, B. et al. Intracellular ABC transporter A3 confers multidrug resistance in leukemia cells by lysosomal drug sequestration. **Leukemia**, v. 22, n. 8, p. 1576–1586, 8 ago. 2008.
- CHATTERJEE, A. et al. A Guide for Designing and Analyzing RNA-Seq Data. Em: [s.l: s.n.]. p. 35–80.
- CHEN, B. et al. Differential pre-malignant programs and microenvironment chart distinct paths to malignancy in human colorectal polyps. **Cell**, v. 184, n. 26, p. 6262- 6280.e26, dez. 2021a.
- CHEN, W. et al. The ABCA1-efferocytosis axis: A new strategy to protect against atherosclerosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 518, p. 1–8, jul. 2021b.
- CHO, J. et al. A Large Cohort of Consecutive Patients Confirmed Frequent HER2 Positivity in Gastric Carcinomas with Advanced Stages. **Annals of Surgical Oncology**, v. 20, n. S3, p. 477–484, 30 dez. 2013.
- CHOI, H. Y. et al. Biomedical Advances in ABCA1 Transporter: From Bench to Bedside. **Biomedicines**, v. 11, n. 2, p. 561, 15 fev. 2023.

CUI, Y. et al. ABCA8 is regulated by miR-374b-5p and inhibits proliferation and metastasis of hepatocellular carcinoma through the ERK/ZEB1 pathway. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 39, n. 1, p. 90, 19 dez. 2020.

CUI, K., YAO, S., LIU, B., SUN, S., GONG, L., LI, Q., FEI, B., & HUANG, Z. A novel high-risk subpopulation identified by CTSL and ZBTB7B in gastric cancer. *British journal of cancer*, 127(8), 2022.

DAVIS, W. Reciprocal regulation of expression of the human adenosine 5'-triphosphate binding cassette, sub-family A, transporter 2 (ABCA2) promoter by the early growth response-1 (EGR-1) and Sp-family transcription factors. **Nucleic Acids Research**, v. 31, n. 3, p. 1097–1107, 1 fev. 2003.

DAVIS, W. The ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) regulates cholesterol homeostasis and low-density lipoprotein receptor metabolism in N2a neuroblastoma cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1811, n. 12, p. 1152–1164, dez. 2011.

DAVIS, W. The ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) regulates esterification of plasma membrane cholesterol by modulation of sphingolipid metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1841, n. 1, p. 168–179, jan. 2014.

DAVIS, W.; TEW, K. D. ATP-binding cassette transporter-2 (ABCA2) as a therapeutic target. **Biochemical Pharmacology**, v. 151, p. 188–200, maio 2018.

DE SOUZA, C. R. T. et al. Occurrence of Helicobacter pylori and Epstein-Barr virus infection in endoscopic and gastric cancer patients from Northern Brazil. **BMC Gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 179, 15 dez. 2014.

DEAN, M.; MOITRA, K.; ALLIKMETS, R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. **Human Mutation**, v. 43, n. 9, p. 1162–1182, 22 set. 2022.

DEMIDENKO, R. et al. Frequent down-regulation of ABC transporter genes in prostate cancer. **BMC Cancer**, v. 15, n. 1, p. 683, 12 dez. 2015.

DENG, H. et al. Prognostic Model and Immune Infiltration of Ferroptosis Subcluster-Related Modular Genes in Gastric Cancer. **Journal of Oncology**, v. 2022, p. 1–20, 13 out. 2022.

DESHPANDE, D. et al. RNA-seq data science: From raw data to effective interpretation. **Frontiers in Genetics**, v. 14, 13 mar. 2023.

DING, Y. et al. Identification of genes associated with gastric cancer survival and construction of a nomogram to improve risk stratification for patients with gastric cancer. **Oncology Letters**, 15 abr. 2020.

DONG, H.; WANG, M.; LI, Q. Exosomal miR-4488 and miR-1273g-5p inhibit the epithelial-mesenchymal transition of transforming growth factor β 2-mediated retinal pigment epithelial cells by targeting ATP-binding cassette A4. **Bioengineered**, v. 12, n. 2, p. 9693–9706, 20 dez. 2021.

DVORAK, P.; PESTA, M.; SOUCEK, P. ABC gene expression profiles have clinical importance and possibly form a new hallmark of cancer. **Tumor Biology**, v. 39, n. 5, p. 101042831769980, 4 maio 2017.

EFFERTH, T. et al. Expression profiling of ATP-binding cassette transporters in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 5, n. 8, p. 1986–1994, 1 ago. 2006.

ELSNEROVA, K. et al. Gene Expression Profiling Reveals Novel Candidate Markers of Ovarian Carcinoma Intraperitoneal Metastasis. **Journal of Cancer**, v. 8, n. 17, p. 3598–3606, 2017.

FAGERBERG, L., HALLSTRÖM, B. M., OKSVOLD, P., KAMPF, C., DJUREINOVIC, D., ODEBERG, J., HABUKA, M., TAHMASEBPOOR, S., DANIELSSON, A., EDLUND, K., ASPLUND, A., SJÖSTEDT, E., LUNDBERG, E., SZIGYARTO, C. A., SKOGS, M., TAKANEN, J. O., BERLING, H., TEGEL, H., MULDER, J., NILSSON, P., ... UHLÉN, M. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. **Molecular & cellular proteomics**: MCP, 13(2), 397–406, 2014.

FENG, Z. et al. Could CTSK and COL4A2 be specific biomarkers of poor prognosis for patients with gastric cancer in Asia?—a microarray analysis based on regional population. **Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 11, n. 2, p. 386–401, abr. 2020.

FERNÁNDEZ, L. P. et al. The transcriptional and mutational landscapes of lipid metabolism-related genes in colon cancer. **Oncotarget**, v. 9, n. 5, p. 5919–5930, 19 jan. 2018.

FU, Y. et al. ABCA5 Regulates Amyloid- β Peptide Production and is Associated with Alzheimer's Disease Neuropathology. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 43, n. 3, p. 857–869, 2 dez. 2014.

GAI, J. et al. FoxO regulates expression of ABCA6, an intracellular ATP-binding-cassette transporter responsive to cholesterol. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, n. 11, p. 2651–2659, nov. 2013.

Gene [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2023 – [Acessado em Agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>

GHODOUSI, E. S.; RAHGOZAR, S. MicroRNA-326 and microRNA-200c: Two novel biomarkers for diagnosis and prognosis of pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 7, p. 6024–6032, 6 jul. 2018.

GONG, Y. et al. Development of a prognostic metabolic signature in stomach adenocarcinoma. **Clinical and Translational Oncology**, v. 24, n. 8, p. 1615–1630, 30 ago. 2022.

GOTOVDORJ, T. et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-P-Dioxin Induced Cell-Specific Drug Transporters With Acquired Cisplatin Resistance in Cisplatin Sensitive Cancer Cells. **Journal of Korean Medical Science**, v. 29, n. 9, p. 1188, 2014.

GUO, Y. et al. Prognostic Value and Immune Infiltrates of ABCA8 and FABP4 in Stomach Adenocarcinoma. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–12, 28 jun. 2020.

GYÖRFFY, B. et al. Gene expression profiling of 30 cancer cell lines predicts resistance towards 11 anticancer drugs at clinically achieved concentrations. **International Journal of Cancer**, v. 118, n. 7, p. 1699–1712, 1 abr. 2006.

HEDDITCH, E. L. et al. ABCA Transporter Gene Expression and Poor Outcome in Epithelial Ovarian Cancer. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 106, n. 7, 1 jul. 2014.

HEIMERL, S. et al. Mapping ATP-binding cassette transporter gene expression profiles in melanocytes and melanoma cells. **Melanoma Research**, v. 17, n. 5, p. 265–273, out. 2007.

HLAVÁČ, V. et al. The expression profile of ATP-binding cassette transporter genes in breast carcinoma. **Pharmacogenomics**, v. 14, n. 5, p. 515–529, abr. 2013.

HLAVATA, I. et al. The role of ABC transporters in progression and clinical outcome of colorectal cancer. **Mutagenesis**, v. 27, n. 2, p. 187–196, mar. 2012.

HU, B. et al. **Gastric cancer: Classification, histology and application of molecular pathology**. **Journal of Gastrointestinal Oncology** Pioneer Bioscience Publishing, , 2012.

HWANG, H.; LEE, K.; CHO, J. <scp>ABCA9</scp> , an <scp>ER</scp> cholesterol transporter, inhibits breast cancer cell proliferation via <scp>SREBP</scp> -2 signaling. **Cancer Science**, v. 114, n. 4, p. 1451–1463, 18 abr. 2023.

IIDA, A. et al. Catalog of 605 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) among 13 genes encoding human ATP-binding cassette transporters: ABCA4, ABCA7, ABCA8, ABCD1, ABCD3, ABCD4, ABCE1, ABCF1, ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5, and ABCG8. **Journal of Human Genetics**, v. 47, n. 6, p. 285–310, jun. 2002.

ILE, K. E. et al. Identification of a novel first exon of the human ABCA2 transporter gene encoding a unique N-terminus. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression**, v. 1678, n. 1, p. 22–32, abr. 2004.

ILIC, M.; ILIC, I. Epidemiology of stomach cancer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 28, n. 12, p. 1187–1203, 28 mar. 2022.

INCA - BRASIL. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2022. 160 p.: il. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>

ITALIANO, A. Prognostic or Predictive? It's Time to Get Back to Definitions! **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 35, p. 4718–4718, 10 dez. 2011.

JIA, Z. et al. Positive H. pylori status predicts better prognosis of non-cardiac gastric cancer patients: results from cohort study and meta-analysis. **BMC Cancer**, v. 22, n. 1, p. 155, 8 dez. 2022.

JOHNSTON, F. M.; BECKMAN, M. Updates on Management of Gastric Cancer. **Current Oncology Reports**, v. 21, n. 8, p. 67, 24 ago. 2019.

KAMINSKI, W. E. et al. ABCA6, a Novel A Subclass ABC Transporter. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 285, n. 5, p. 1295–1301, ago. 2001.

KANG, C. Epigenetics: An emerging player in gastric cancer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 21, p. 6433, 2014.

KANG, M. H. et al. Regulation of ABCA1 Protein Expression and Function in Hepatic and Pancreatic Islet Cells by miR-145. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 12, p. 2724–2732, dez. 2013.

KARATAS, O. F. et al. The role of ATP-binding cassette transporter genes in the progression of prostate cancer. **The Prostate**, v. 76, n. 5, p. 434–444, abr. 2016.

KIM, J. et al. miR-106b impairs cholesterol efflux and increases A β levels by repressing ABCA1 expression. **Experimental Neurology**, v. 235, n. 2, p. 476–483, jun. 2012.

KIM, W. S. et al. ABCA8 stimulates sphingomyelin production in oligodendrocytes. **Biochemical Journal**, v. 452, n. 3, p. 401–410, 15 jun. 2013.

KOLDAMOVA, R.; FITZ, N. F.; LEFTEROV, I. ATP-binding cassette transporter A1: From metabolism to neurodegeneration. **Neurobiology of Disease**, v. 72, p. 13–21, dez. 2014.

KOTLYAROV, S. Participation of ABCA1 Transporter in Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3334, 24 mar. 2021.

KRØIGÅRD, A. B. et al. Identification of metastasis driver genes by massive parallel sequencing of successive steps of breast cancer progression. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p. e0189887, 2 jan. 2018.

LAING, N. M. et al. Amplification of the ATP-binding cassette 2 transporter gene is functionally linked with enhanced efflux of estramustine in ovarian carcinoma cells. **Cancer research**, v. 58, n. 7, p. 1332–7, 1 abr. 1998.

LAURÉN, P. THE TWO HISTOLOGICAL MAIN TYPES OF GASTRIC CARCINOMA: DIFFUSE AND SO-CALLED INTESTINAL-TYPE CARCINOMA. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, v. 64, n. 1, p. 31–49, set. 1965.

LEE, B. H. et al. Dysregulation of Cholesterol Homeostasis in Human Prostate Cancer through Loss of *ABCA1*. **Cancer Research**, v. 73, n. 3, p. 1211–1218, 1 fev. 2013.

LEWANDOWSKI, C. T.; LAHAM, M. S.; THATCHER, G. R. J. Remembering your A, B, C's: Alzheimer's disease and ABCA1. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 12, n. 3, p. 995–1018, mar. 2022.

LI, Q. et al. Molecular profiling of human non-small cell lung cancer by single-cell RNA-seq. **Genome Medicine**, v. 14, n. 1, p. 87, 13 ago. 2022.

LIU, J. et al. Hepatic microRNAome reveals potential microRNA-mRNA pairs association with lipid metabolism in pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 9, p. 1458–1468, 1 set. 2019.

LIU, M. et al. Characterization of lipid droplet metabolism patterns identified prognosis and tumor microenvironment infiltration in gastric cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 11 jan. 2023.

LIU, X. et al. Discovery of microarray-identified genes associated with ovarian cancer progression. **International Journal of Oncology**, v. 46, n. 6, p. 2467–2478, jun. 2015.

LV, C. et al. ABCA8 inhibits breast cancer cell proliferation by regulating the AMP activated protein kinase/mammalian target of rapamycin signaling pathway. **Environmental Toxicology**, v. 37, n. 6, p. 1423–1431, 22 jun. 2022.

MA, J. et al. Lauren classification and individualized chemotherapy in gastric cancer. **Oncology Letters**, v. 11, n. 5, p. 2959–2964, maio 2016.

MACHADO-LIMA, A. et al. Advanced glycated albumin isolated from poorly controlled type 1 diabetes mellitus patients alters macrophage gene expression impairing ABCA-1-mediated reverse cholesterol transport. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 29, n. 1, p. 66–76, jan. 2013.

MADU, C. O.; LU, Y. Novel diagnostic biomarkers for prostate cancer. **Journal of Cancer**, p. 150–177, 2010.

MANTZIARI, S. et al. A Comprehensive Review of Prognostic Factors in Patients with Gastric Adenocarcinoma. **Cancers**, v. 15, n. 5, p. 1628, 6 mar. 2023.

MARZAC, C. et al. ATP Binding Cassette transporters associated with chemoresistance: transcriptional profiling in extreme cohorts and their prognostic impact in a cohort of 281 acute myeloid leukemia patients. **Haematologica**, v. 96, n. 9, p. 1293–1301, 1 set. 2011.

MATSUMURA, Y. et al. Characterization and Classification of ATP-binding Cassette Transporter ABCA3 Mutants in Fatal Surfactant Deficiency. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 45, p. 34503–34514, nov. 2006.

MENG, S. et al. GJA1 Expression and Its Prognostic Value in Cervical Cancer. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–10, 23 nov. 2020.

MOAZZENI, H.; NAJAFI, A.; KHANI, M. Identification of direct target genes of miR-7, miR-9, miR-96, and miR-182 in the human breast cancer cell lines MCF-7 and MDA-MB-231. **Molecular and Cellular Probes**, v. 34, p. 45–52, ago. 2017.

MODI, A. et al. ABC transporters in breast cancer: their roles in multidrug resistance and beyond. **Journal of Drug Targeting**, v. 30, n. 9, p. 927–947, 21 out. 2022.

MOHELNIKOVA-DUCHONOVA, B. et al. Differences in Transcript Levels of ABC Transporters Between Pancreatic Adenocarcinoma and Nonneoplastic Tissues. **Pancreas**, v. 42, n. 4, p. 707–716, maio 2013.

MOON, S.-H. et al. p53 Represses the Mevalonate Pathway to Mediate Tumor Suppression. **Cell**, v. 176, n. 3, p. 564–580.e19, jan. 2019.

MOORE, J. M. et al. ABC transporters: human disease and pharmacotherapeutic potential. **Trends in Molecular Medicine**, v. 29, n. 2, p. 152–172, fev. 2023.

MORTEZAEI, Z.; TAVALLAEI, M.; HOSSEINI, S. M. Considering smoking status, coexpression network analysis of non–small cell lung cancer at different cancer stages, exhibits important genes and pathways. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 11, p. 19172–19185, 4 nov. 2019.

NAKAGAWA, H.; FUJITA, M. Whole genome sequencing analysis for cancer genomics and precision medicine. **Cancer Science**, v. 109, n. 3, p. 513–522, mar. 2018.

NIEVA, C. et al. The Lipid Phenotype of Breast Cancer Cells Characterized by Raman Microspectroscopy: Towards a Stratification of Malignancy. **PLoS ONE**, v. 7, n. 10, p. e46456, 17 out. 2012.

NISHIZUKA, S. S. et al. *Helicobacter pylori* infection is associated with favorable outcome in advanced gastric cancer patients treated with S-1 adjuvant chemotherapy. **Journal of Surgical Oncology**, v. 117, n. 5, p. 947–956, abr. 2018.

NWABUFO, C. K. Relevance of ABC Transporters in Drug Development. **Current Drug Metabolism**, v. 23, n. 6, p. 434–446, maio 2022.

NYMOEN, D. A. et al. CIAPIN1 and ABCA13 are markers of poor survival in metastatic ovarian serous carcinoma. **Molecular Cancer**, v. 14, n. 1, p. 44, 18 dez. 2015.

OLDENHUIS, C. N. A. M. et al. Prognostic versus predictive value of biomarkers in oncology. **European Journal of Cancer**, v. 44, n. 7, p. 946–953, maio 2008.

ORAM, J. F., & VAUGHAN, A. M. ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease. *Circulation research*, 99(10), 1031–1043, 2006.

OSHLACK, A.; ROBINSON, M. D.; YOUNG, M. D. From RNA-seq reads to differential expression results. **Genome Biology**, v. 11, n. 12, p. 220, 2010.

OUE, N. et al. Molecular carcinogenesis of gastric cancer: Lauren classification, mucin phenotype expression, and cancer stem cells. **International Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 7, p. 771–778, 12 jul. 2019.

PAN, H. et al. Expression of LXR- β , ABCA1 and ABCG1 in human triple-negative breast cancer tissues. **Oncology Reports**, 14 ago. 2019.

PARK, J.-H. et al. ABCA1-Mediated EMT Promotes Papillary Thyroid Cancer Malignancy through the ERK/Fra-1/ZEB1 Pathway. **Cells**, v. 12, n. 2, p. 274, 10 jan. 2023.

PARK, S. et al. Gene expression profiling of ATP-binding cassette (ABC) transporters as a predictor of the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 99, n. 1, p. 9–17, 5 set. 2006.

PASELLO, M. et al. ABCA6 affects the malignancy of Ewing sarcoma cells via cholesterol-guided inhibition of the IGF1R/AKT/MDM2 axis. **Cellular Oncology**, v. 45, n. 6, p. 1237–1251, 23 dez. 2022.

PASELLO, M.; GIUDICE, A. M.; SCOTLANDI, K. The ABC subfamily A transporters: Multifaceted players with incipient potentialities in cancer. **Seminars in Cancer Biology**, v. 60, p. 57–71, fev. 2020.

PANDEY, G., BAKHSHI, S., THAKUR, B., JAIN, P., & CHAUHAN, S. S. Prognostic significance of cathepsin L expression in pediatric acute myeloid leukemia. **Leukemia & lymphoma**, 59(9), 2175–2187, 2018.

PETRY, F.; KOTTHAUS, A.; HIRSCH-ERNST, K. I. Cloning of human and rat ABCA5/Abca5 and detection of a human splice variant. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 300, n. 2, p. 343–350, jan. 2003.

PIEHLER, A. et al. Molecular structure of a novel cholesterol-responsive A subclass ABC transporter, ABCA9. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 295, n. 2, p. 408–416, jul. 2002.

PIEHLER, A. P. et al. [ABCA-transporters: regulators of cellular lipid transport]. **Tidsskrift for den Norske laegeforening : tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke**, v. 127, n. 22, p. 2930–3, 15 nov. 2007.

PIÑEROS, M. et al. Essential TNM: a registry tool to reduce gaps in cancer staging information. **The Lancet Oncology**, v. 20, n. 2, p. e103–e111, fev. 2019.

PORTENOY, R. K.; AHMED, E. Cancer Pain Syndromes. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 32, n. 3, p. 371–386, jun. 2018.

POUYANRAD, S.; RAHGOZAR, S.; GHODOUSI, E. S. Dysregulation of miR-335-3p, targeted by NEAT1 and MALAT1 long non-coding RNAs, is associated with poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Gene**, v. 692, p. 35–43, abr. 2019.

PRIJIC, S.; CHANG, J. T. ABCA1 Expression Is Upregulated in an EMT in Breast Cancer Cell Lines via MYC-Mediated De-Repression of Its Proximal Ebox Element. **Biomedicines**, v. 10, n. 3, p. 581, 2 mar. 2022.

PROCHAZKA, L. et al. Mitochondrial targeting overcomes ABCA1-dependent resistance of lung carcinoma to α -tocopheryl succinate. **Apoptosis**, v. 18, n. 3, p. 286–299, 9 mar. 2013.

QIU, M. et al. Clinicopathological characteristics and prognostic analysis of Lauren classification in gastric adenocarcinoma in China. **Journal of Translational Medicine**, v. 11, n. 1, p. 58, 6 dez. 2013.

QUAZI, F.; LENEVICH, S.; MOLDAY, R. S. ABCA4 is an N-retinylidene-phosphatidylethanolamine and phosphatidylethanolamine importer. **Nature Communications**, v. 3, n. 1, p. 925, 26 jun. 2012.

QUAZI, F.; MOLDAY, R. S. Differential Phospholipid Substrates and Directional Transport by ATP-binding Cassette Proteins ABCA1, ABCA7, and ABCA4 and Disease-causing Mutants. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 48, p. 34414–34426, nov. 2013.

RAMIREZ, C. M. et al. MicroRNA-758 Regulates Cholesterol Efflux Through Posttranscriptional Repression of ATP-Binding Cassette Transporter A1.

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, v. 31, n. 11, p. 2707–2714, nov. 2011.

RAYNER, K. J. et al. MiR-33 Contributes to the Regulation of Cholesterol Homeostasis. **Science**, v. 328, n. 5985, p. 1570–1573, 18 jun. 2010.

REZAEI, Z. et al. Identification of early diagnostic biomarkers via WGCNA in gastric cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 145, p. 112477, jan. 2022.

SAINI, V. et al. Identification of CBX3 and ABCA5 as Putative Biomarkers for Tumor Stem Cells in Osteosarcoma. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. e41401, 3 ago. 2012.

SAN SEGUNDO-VAL, I.; SANZ-LOZANO, C. S. Introduction to the Gene Expression Analysis. Em: [s.l: s.n.]. p. 29–43.

SHAW, A. et al. Tumour biomarkers: diagnostic, prognostic, and predictive: **BMJ**, p. h3449, 3 jul. 2015.

SHI, H. et al. Bias in RNA-seq Library Preparation: Current Challenges and Solutions. **BioMed Research International**, v. 2021, p. 1–11, 19 abr. 2021.

SHINOZAKI-USHIKU, A.; KUNITA, A.; FUKAYAMA, M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (Review). **International Journal of Oncology**, v. 46, n. 4, p. 1421–1434, abr. 2015.

SIMONEAU, J. et al. Current RNA-seq methodology reporting limits reproducibility. **Briefings in Bioinformatics**, v. 22, n. 1, p. 140–145, 18 jan. 2021.

SOUZA, C. R. T. DE et al. Association between *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr virus, human papillomavirus and gastric adenocarcinomas. **World Journal of Gastroenterology**, v. 24, n. 43, p. 4928–4938, 21 nov. 2018.

STEINBACH, D. et al. ABCA3 as a Possible Cause of Drug Resistance in Childhood Acute Myeloid Leukemia. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 14, p. 4357–4363, 15 jul. 2006.

SUDHAN, D. R.; SIEMANN, D. W. Cathepsin L targeting in cancer treatment. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 155, p. 105–116, nov. 2015.

SUN, R. et al. FOXI1 inhibits gastric cancer cell proliferation by activating miR-590/ATF3 axis via integrating ChIP-seq and RNA-seq data. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 163, p. 34–45, ago. 2021.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209–249, 4 maio 2021.

SZLASA, W. et al. Lipid composition of the cancer cell membrane. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 52, n. 5, p. 321–342, 26 out. 2020.

TAKANO, M. et al. Role of miR-34a in TGF- β 1- and Drug-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Alveolar Type II Epithelial Cells. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 106, n. 9, p. 2868–2872, set. 2017.

TAO, R. et al. Role of S100A3 in human hepatocellular carcinoma and the anticancer effect of sodium cantharidinate. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 13, n. 6, p. 2812–2818, jun. 2017.

TAVAKOLI, A. et al. Association between Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review and meta-analysis. **BMC Cancer**, v. 20, n. 1, p. 493, 1 dez. 2020.

THRIFT, A. P.; EL-SERAG, H. B. Burden of Gastric Cancer. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 3, p. 534–542, mar. 2020.

TRIGUEROS-MOTOS, L. et al. ABCA8 Regulates Cholesterol Efflux and High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 37, n. 11, p. 2147–2155, nov. 2017.

TSURUOKA, S. et al. Functional analysis of ABCA8, a new drug transporter. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 298, n. 1, p. 41–45, out. 2002.

UDDIN, MD. N.; WANG, X. Identification of key tumor stroma-associated transcriptional signatures correlated with survival prognosis and tumor progression in breast cancer. **Breast Cancer**, v. 29, n. 3, p. 541–561, 12 maio 2022.

USUI, Y. et al. *Helicobacter pylori* , Homologous-Recombination Genes, and Gastric Cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 388, n. 13, p. 1181–1190, 30 mar. 2023.

VASILIOU, V.; VASILIOU, K.; NEBERT, D. W. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. **Human Genomics**, v. 3, n. 3, p. 281, 2008.

VERMA, M. et al. Epigenetic Research in Cancer Epidemiology: Trends, Opportunities, and Challenges. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 23, n. 2, p. 223–233, 1 fev. 2014.

WANG, C. et al. Distinct prognostic roles of S100 mRNA expression in gastric cancer. **Pathology - Research and Practice**, v. 215, n. 1, p. 127–136, jan. 2019.

WANG, D. et al. Impact of natural products on the cholesterol transporter ABCA1. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 249, p. 112444, mar. 2020.

WANG, F. et al. Helicobacter pylori Infection Predicts Favorable Outcome in Patients with Gastric Cancer. **Current Oncology**, v. 20, n. 5, p. 388–395, 1 out. 2013.

WANG, J. et al. Role of ABCA1 in Cardiovascular Disease. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 6, p. 1010, 20 jun. 2022.

WANG, W. et al. ABCA1 is associated with the development of acquired chemotherapy resistance and predicts poor ovarian cancer outcome. **Cancer Drug Resistance**, 2021.

WITHANAGE, M. H. H.; LIANG, H.; ZENG, E. RNA-Seq Experiment and Data Analysis. Em: [s.l: s.n.]. p. 405–424.

WU, K. et al. Roles of ABCA1 in cancer (Review). **Oncology Letters**, v. 24, n. 4, p. 349, 19 ago. 2022.

WU, N., WANG, Y., WANG, K., ZHONG, B., LIAO, Y., LIANG, J., & JIANG, N. Cathepsin K regulates the tumor growth and metastasis by IL-17/CTSK/EMT axis and mediates M2 macrophage polarization in castration-resistant prostate cancer. **Cell death & disease**, 13(9), 813, 2022.

XIAO, H. et al. Clinically-Relevant ABC Transporter for Anti-Cancer Drug Resistance. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 19 abr. 2021.

XIE, R. et al. Identification of the diagnostic genes and immune cell infiltration characteristics of gastric cancer using bioinformatics analysis and machine learning. **Frontiers in Genetics**, v. 13, 4 jan. 2023.

XUE, S. et al. Identification of a 3-Gene Model as Prognostic Biomarker in Patients With Gastric Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 14 jul. 2022.

YANG, Y. et al. Comprehensive Analysis of ABCA Family Members in Lung Adenocarcinoma with Prognostic Values. **Molecular Biotechnology**, v. 64, n. 12, p. 1441–1453, 27 dez. 2022.

YASSINE, H. N. et al. Enhanced cholesterol efflux to HDL through the ABCA1 transporter in hypertriglyceridemia of type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 63, n. 5, p. 727–734, maio 2014.

YASUI, K. et al. Alteration in Copy Numbers of Genes as a Mechanism for Acquired Drug Resistance. **Cancer Research**, v. 64, n. 4, p. 1403–1410, 15 fev. 2004.

YE, H. et al. Transcriptomic dissection of tongue squamous cell carcinoma. **BMC Genomics**, v. 9, n. 1, p. 69, 6 dez. 2008.

YIN, H. et al. Drug metabolism-related eight-gene signature can predict the prognosis of gastric adenocarcinoma. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 35, n. 12, 13 dez. 2021.

YOSHIDA, I.; BAN, N.; INAGAKI, N. Expression of ABCA3, a causative gene for fatal surfactant deficiency, is up-regulated by glucocorticoids in lung alveolar type II cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 323, n. 2, p. 547–555, out. 2004.

YU, L. et al. Characterization of cancer-related fibroblasts (CAF) in hepatocellular carcinoma and construction of CAF-based risk signature based on single-cell RNA-seq and bulk RNA-seq data. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 23 set. 2022.

YUN, E.-J. et al. The network of DAB2IP-miR-138 in regulating drug resistance of renal cell carcinoma associated with stem-like phenotypes. **Oncotarget**, v. 8, n. 40, p. 66975–66986, 15 set. 2017.

YUSEFI, A. R. et al. Risk Factors for Gastric Cancer: A Systematic Review. **Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP**, v. 19, n. 3, p. 591–603, 27 mar. 2018.

ZAIMY, M. A. et al. New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles. **Cancer Gene Therapy**, v. 24, n. 6, p. 233–243, 2 jun. 2017.

ZAMBON, A. et al. MAGE, BAGE, and GAGE gene expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the gastric cardia. **Cancer**, v. 91, n. 10, p. 1882–1888, 15 maio 2001.

ZENG, L. et al. Sterol-responsive Element-binding Protein (SREBP) 2 Down-regulates ATP-binding Cassette Transporter A1 in Vascular Endothelial Cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 47, p. 48801–48807, nov. 2004.

ZHANG, F.-J. et al. [MiR-124-3p Enhances the Sensitivity of Chronic Myelogenous Leukemia Cell K562-R to Imatinib by Targeting ABCA2]. **Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi**, v. 28, n. 3, p. 789–796, jun. 2020a.

ZHANG, J. et al. Systematic analysis of the ABC transporter family in hepatocellular carcinoma reveals the importance of ABCB6 in regulating ferroptosis. **Life Sciences**, v. 257, p. 118131, set. 2020b.

ZHANG, Y. et al. S100A gene family: immune-related prognostic biomarkers and therapeutic targets for low-grade glioma. **Aging**, v. 13, n. 11, p. 15459–15478, 15 jun. 2021.

ZHAO, W. et al. Candidate Antimetastasis Drugs Suppress the Metastatic Capacity of Breast Cancer Cells by Reducing Membrane Fluidity. **Cancer Research**, v. 76, n. 7, p. 2037–2049, 1 abr. 2016.

ZHOU, K. et al. Discovery of primary prostate cancer biomarkers using cross cancer learning. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 10433, 17 maio 2021.

ZHOU, X. et al. The ATP Binding Cassette Transporter A1 Contributes to the Secretion of Interleukin 1 β from Macrophages but Not from Monocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 291, n. 3, p. 598–604, mar. 2002.

ZHOU, Z.-Y. et al. Positive regulation of ataxia-telangiectasia-mutated protein (ATM) by E2F transcription Factor 1 (E2F-1) in cisplatin-resistant nasopharyngeal carcinoma cells. **World journal of surgical oncology**, v. 20, n. 1, p. 88, 18 mar. 2022.

ZHU, X. et al. TFEB Promotes Prostate Cancer Progression via Regulating ABCA2-Dependent Lysosomal Biogenesis. **Frontiers in Oncology**, v. 11, 1 mar. 2021.

ZOABI, Y.; SHOMRON, N. Processing and Analysis of RNA-seq Data from Public Resources. Em: [s.l: s.n.]. p. 81–94.