

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

PATRÍCIA BENITES GONÇALVES DA SILVA



**Fator de pluripotência OCT4A e agressividade de
meduloblastoma humano**

***Pluripotency factor OCT4A and human
medulloblastoma aggressiveness***

**São Paulo
2016**

PATRÍCIA BENITES GONÇALVES DA SILVA

**Fator de pluripotência OCT4A e agressividade de
meduloblastoma humano**

***Pluripotency factor OCT4A and human
medulloblastoma aggressiveness***

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de
Título de Doutor em Ciências, na
Área de Biologia (Genética).

Departamento:

Biologia e Genética Evolutiva

Área de Concentração:

Biologia (Genética)

Orientador:

Prof. Dr. Oswaldo Keith Okamoto

São Paulo

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Silva, Patrícia Benites Gonçalves da

Fator de pluripotência OCT4A e agressividade de meduloblastoma humano / Patrícia Benites Gonçalves da Silva – São Paulo, 2016.

213 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Biologia (Genética).

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Keith Okamoto.

1. Meduloblastoma
2. Célula-Tronco Tumoral
3. OCT4A

I. Okamoto, Prof. Dr. Oswaldo Keith II. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Genética e Biologia Evolutiva. Programa de Pós-Graduação Biologia (Genética) III. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: SILVA, Patrícia Benites Gonçalves da

Título: Fator de pluripotência OCT4A e agressividade de meduloblastoma humano

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Doutor em Ciências, na Área de Biologia (Genética).

Aprovado em: ___/___/___.

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a).:	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof(a). Dr(a).:	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof(a). Dr(a).:	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof(a). Dr(a).:	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____
Prof(a). Dr(a).:	_____	Instituição:	_____
Julgamento:	_____	Assinatura:	_____

RESUMO

SILVA, P. B. G. **Fator de Pluripotência OCT4A e agressividade de meduloblastoma humano** [Pluripotency factor OCT4A and aggressiveness of human medulloblastoma]. 2016. 213 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2016

O meduloblastoma é o tumor maligno do sistema nervoso central mais frequente na infância e adolescência. A expressão de genes tipicamente expressos em células-tronco está correlacionada com pior prognóstico em pacientes com meduloblastoma e a expressão de *POU5F1* se mostrou capaz de distinguir pacientes com desfecho clínico desfavorável e pior sobrevida. Apesar do seu valor prognóstico, não há evidências diretas da contribuição de OCT4 para a aquisição de fenótipos mais agressivos em meduloblastoma. Nesse contexto, o presente trabalho investigou o papel da isoforma OCT4A em características pró-tumorigênicas de meduloblastoma *in vitro* e *in vivo*, e também avaliou as alterações moleculares que podem ser responsáveis pela aquisição de fenótipo mais agressivo em células de meduloblastoma humano. Para tanto, foi realizada a superexpressão de OCT4A mediada por retrovírus em três linhagens celulares de meduloblastoma (Daoy, D283Med e USP-13-Med). As células de meduloblastoma com superexpressão de OCT4A exibiram maior proliferação e alterações no ciclo celular. Foram observados também aumentos na atividade clonogênica, geração de esferas tumorais e desenvolvimento tumoral em modelo subcutâneo, sendo esses efeitos dependentes dos níveis de OCT4A. A avaliação da mobilidade celular *in vitro* demonstrou diminuição na adesão celular e aumento da invasão celular de esferoide 3D. Em modelo ortotópico de meduloblastoma, as células com superexpressão de OCT4A geraram tumores mais desenvolvidos, com fenótipos mais agressivos, infiltrativos e metastáticos. A superexpressão de OCT4A foi associada a maior instabilidade genômica, entretanto, as aberrações em números de cópias variaram em frequência e tipo de alteração dependendo da linhagem celular, e sendo pouco associada com os genes diferencialmente expressos. De forma interessante, uma relevante expressão diferencial de RNAs não-codificadores de proteínas foi observada em células de meduloblastoma com superexpressão de OCT4A, incluindo os recém descobertos e pouco caracterizados RNAs não codificadores longos, além de múltiplos RNAs pequenos nucleolares. Assim, os resultados aqui apresentados fundamentam a relevância de fatores envolvidos em pluripotência para o agravamento de traços associados com desfecho clínico desfavorável em meduloblastoma e destacam o valor prognóstico e terapêutico de OCT4A neste tumor pediátrico do sistema nervoso central.

Palavras-Chave: Meduloblastoma, Célula-Tronco Tumoral, OCT4A

ABSTRACT

SILVA, P. B. G. **Pluripotency factor OCT4A and aggressiveness of human medulloblastoma** [Fator de Pluripotência OCT4A e agressividade de medulloblastoma humano]. 2016. 213 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2016

Medulloblastoma is the most common malignant brain tumor in infants. The expression of typical pluripotency genes is correlated with poor prognosis in medulloblastoma and *POU5F1* expression was shown capable of discriminating patients with poor survival outcome. Despite this prognostic value, direct evidences of OCT4 contribution to more aggressive traits in medulloblastoma are missing. In this context, we investigated the role of OCT4A isoform on pro-tumorigenic features of medulloblastoma *in vitro* and *in vivo* and evaluated molecular alterations that could be responsible for acquisition of a more aggressive phenotype in medulloblastoma cells. Retroviral-mediated overexpression of OCT4A were performed in three medulloblastoma cell lines (Daoy, D283Med and USP-13-Med). Medulloblastoma cells overexpressing OCT4A displayed enhanced cell proliferation and cell cycle alterations. Increased clonogenic activity, tumorsphere generation capability and subcutaneous tumor development were also observed, and these effects were OCT4A expression level-dependent. Evaluation of cell mobility *in vitro* showed loss of cell adhesion and greater 3D-spheroid invasion. In an orthotopic model of medulloblastoma, OCT4A overexpressing cells generated more developed, aggressive, infiltrative and metastatic tumors. OCT4A overexpression was associated with chromosomal instability but copy number aberrations varied in frequency and type according to the cell line, with little association with differently expressed genes. Interestingly, marked differential expression of non-coding RNAs, including newly discovered, still poorly characterized, long non-coding RNAs and multiple small nucleolar RNAs were observed in medulloblastoma cells with OCT4A overexpression. Altogether, our findings support the relevance of pluripotency-related factors in the aggravation of medulloblastoma traits classically associated with poor clinical outcome, and underscore the prognostic and therapeutic value of OCT4A in this challenging type of pediatric brain cancer.

Keywords: Medulloblastoma, Cancer Stem Cell, OCT4A

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1. CÂNCER

O câncer é uma das principais causas de mortalidade e morbidade no mundo e somente em 2012 foram diagnosticados 14,1 milhões de novos casos, além de ter sido responsável por 8,2 milhões de óbitos devido a complicações provocadas pelo câncer (FERLAY et al., 2015). Observa-se que a incidência de neoplasias em países desenvolvidos é maior que a de países em desenvolvimento (FERLAY et al., 2015) e dados publicados pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, do inglês, *Centers for Disease Control and Prevention*) dos Estados Unidos (EUA) indicam que mortes causadas por neoplasias em 2013 possuíam taxas muito semelhantes a de doenças cardiovasculares (22.5% e 23.5%, respectivamente) (XU et al., 2016). No Brasil, a proporção da mortalidade por câncer é similar aos dados mundiais, sendo a segunda principal causa de morte (17%) e inferior apenas a doenças cardiovasculares (31%) (WHO, 2014). O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou a incidência de 596.070 novos casos de neoplasias em 2016 (INCA, 2015).

Apesar dos avanços em medidas profiláticas e terapêuticas para o câncer, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que em 2030, aproximadamente 22 milhões de pessoas serão diagnosticadas com algum tipo de neoplasia e 13 milhões terão suas mortes associadas ao desenvolvimento e progressão tumoral. Somente no Brasil, estima-se que a incidência e a mortalidade por câncer duplicarão até 2035 (WHO; IARC, 2012). Tal projeção evidencia o câncer como um dos principais problemas de saúde pública. Por se tratar de um conjunto de mais de 100 doenças que acometem diversos tipos celulares e tecidos, as abordagens clínicas costumam ser específicas para cada tipo tumoral. Com o intuito de aperfeiçoar os métodos diagnósticos, profiláticos e terapêuticos, grande atenção tem sido dada à classificação de subgrupos clínicos, bem como de subtipos histopatológicos e moleculares de tumores, visando a melhoria na qualidade de vida do paciente.

O câncer é uma doença complexa e, na maioria dos casos, de origem multifatorial, sob influência de diversos fatores como, por exemplo: idade, sexo, etnia, distribuição geográfica, estilo de vida e hábitos alimentares. Os tumores de pele não melanoma são os mais frequentes na população e comumente são excluídos das estatísticas devido a sua alta incidência e baixa letalidade. Após a sua exclusão, os tumores de próstata e mama são os mais frequentes na população, seguidos por câncer de pulmão e câncer colorretal (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2015). No Brasil, o câncer de próstata, pulmão e colorretal são os mais frequentes em homens, enquanto que, em mulheres, há maior incidência de tumores de mama, colorretal e de colo do útero (INCA, 2015).

1.2. TUMORES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) são relativamente raros, sendo o 14º tipo mais comum em homens e o 15º em mulheres (INCA, 2015). Pesquisas mais recentes estimaram para o ano de 2016, 23 mil novos casos de tumores do SNC nos EUA (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016) e 10 mil novos casos no Brasil (INCA, 2015). Apesar da baixa incidência, os tumores do SNC possuem alta letalidade, com expectativa de sobrevida em cinco anos de 35% dos casos diagnosticados (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016). Em crianças e adolescentes, as neoplasias do SNC apresentam um panorama ainda mais preocupante por representarem o segundo grupo de tumores mais frequentes (atrás apenas das leucemias) e o mais fatal a desenvolver-se nessa faixa etária (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016; WARD et al., 2014). Além da alta mortalidade, os tratamentos comumente aplicados em pacientes com tumores do SNC podem ocasionar graves sequelas no cérebro em desenvolvimento, comprometendo a qualidade de vida desses pacientes (FOULADI et al., 2005; HOPPE-HIRSCH et al., 1995; KILTIE; LASHFORD; GATTAMANENI, 1997).

Tumores em geral benignos, que afetam as meninges (conhecidos como meningiomas), são os mais frequentemente encontrados no SNC (35.9%). Dentre os tumores malignos, o glioblastoma é o tumor mais frequente, representando 53,4% de todos os tumores malignos do SNC e 15,1% do total de diagnósticos.

Em crianças, no entanto, os tumores malignos compreendem a maioria dos tumores primários diagnosticados no SNC, com incidência de 3,73 casos em 100.000 habitantes, comparativamente aos tumores benignos que apresentam incidência estimada em 1,64 em 100.000 (OSTROM et al., 2015b). Os tumores embrionários são os principais tumores a desenvolverem-se no SNC de crianças até quatro anos de idade, e o segundo principal em crianças e adolescentes na faixa etária de 0-19 anos. Dentre os tumores embrionários, o meduloblastoma é o tumor mais frequente, correspondendo a 62,9% dos tumores embrionários diagnosticados em crianças de 0-14 anos, seguido pelo Tumor Teratóide Rabdóide Atípico (do inglês *Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor*, AT/RT) (15,5%) (OSTROM et al., 2015b). Apesar dos avanços recentes no diagnóstico e tratamento desses tumores, a sobrevida em 10 anos dos pacientes ainda é baixa para ambos os casos, sendo de 63% para meduloblastoma e 26% para AT/RT (OSTROM et al., 2015a, 2015b).

1.3. MEDULOBLASTOMA

O meduloblastoma é o tumor pediátrico maligno mais comum do SNC e a principal causa de morte por câncer em crianças. É um tumor de origem embrionária que desenvolve-se no cerebelo após a desregulação de vias de sinalização importantes para o desenvolvimento do SNC (LETO et al., 2015). Seguindo a classificação da OMS, o meduloblastoma é um tumor altamente agressivo (Grau IV), com presença de células com morfologia anormal e alta taxa de proliferação, extensa vascularização e angiogênese, e presença de necrose no interior da massa tumoral (ABTA, 2015; LOUIS et al., 2007). Diferente de muitos tumores do SNC, o meduloblastoma possui elevada capacidade de disseminação dentro do neuroeixo, sendo observado a ocorrência de metástases em 40% dos casos diagnosticados. Nos casos mais raros, são observadas metástases na medula óssea, pulmão e linfonodos (WU et al., 2012).

Os primeiros sintomas observados em pacientes com meduloblastoma são letargia, irritabilidade, falta de apetite, dor de cabeça e vômito. Tais sintomas são comumente confundidos devido a sua inespecificidade e similaridade a outras doenças. A suspeita de meduloblastoma

ocorre, geralmente, a partir dos sintomas secundários, como tontura, perda de equilíbrio, visão dupla, nistagmo, rigidez da nuca, inclinação do pescoço e hidrocefalia. Os sintomas secundários geralmente ocorrem após a massa tumoral impedir o fluxo do líquido cefalorraquidiano (LCR) no 4º ventrículo e pela compressão do tronco encefálico e estruturas importantes no cerebelo (ABTA, 2015).

Em todos os casos diagnosticados de meduloblastoma, o paciente é submetido a ressecção cirúrgica. São utilizados tratamentos adicionais como quimioterapia e/ou radioterapia, baseado na possibilidade de recidiva tumoral e idade do paciente. Devido à localização primária desse tumor e o fato de o desenvolvimento do SNC ocorrer até a adolescência, evita-se a utilização de terapias agressivas que podem exercer efeitos adversos. Fouladi e colaboradores observaram que 90% das crianças com menos de três anos, submetidas a radioterapia cranioespinhal total (RCE), desenvolveram endocrinopatias, como deficiência na produção do hormônio do crescimento e hormônio adrenocorticotrófico, além de hipotireoidismo (FOULADI et al., 2005).

Os tratamentos também afetam parâmetros neurocognitivos que impactam a qualidade de vida do paciente. Foi reportado que os pacientes submetidos a RCE quando crianças não possuem independência para trabalhar (FOULADI et al., 2005) e não são casados quando atingem a idade adulta (FOULADI et al., 2005; KILTIE; LASHFORD; GATTAMANENI, 1997). Tais pacientes necessitam de educação especial durante a infância e adolescência (KILTIE; LASHFORD; GATTAMANENI, 1997) e, devido a agressividade do meduloblastoma, tal dependência de educação especial é maior do que a de pacientes diagnosticados com ependimoma, um outro tipo de tumor do SNC (HOPPE-HIRSCH et al., 1995). No entanto, a utilização de terapias mais brandas pode comprometer o tratamento de tumores muito agressivos, facilitando recidivas tumorais. Quase a totalidade dos pacientes com reaparecimento da doença falecem em até cinco anos (ZELTZER et al., 1999). Com o intuito de amenizar eventuais sequelas no SNC em desenvolvimento e aumentar a eficiência dos tratamentos, classificações de pacientes com meduloblastoma baseadas em parâmetros clínicos, histopatológicos e, mais recentemente,

moleculares têm sido exploradas para aperfeiçoar a escolha terapêutica mais indicada para cada caso clínico.

1.3.1. CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA DO MEDULOBLASTOMA

Os pacientes com meduloblastoma são estratificados clinicamente em risco médio ou alto de ocorrência de recidiva tumoral. São utilizados parâmetros tais como: idade do paciente ao diagnóstico, tamanho residual do tumor após a ressecção cirúrgica e presença de metástase ao diagnóstico. As crianças com idade inferior a três anos costumam apresentar tumores mais agressivos e são então classificadas como pacientes com alto risco de recidiva. O mesmo ocorre para pacientes em qualquer idade que apresentam metástase no momento do diagnóstico inicial.

Durante a cirurgia, o médico pondera a extensão de excisão do tumor, podendo ser total, quase total e subtotal, de forma a evitar o comprometimento da função cerebelar. Em muitos casos, a invasão do tumor em estruturas do cerebelo e tronco encefálico impossibilita a ressecção total ou quase total do tumor. Uma ressecção subtotal, caracterizada pela presença de resíduo tumoral superior a 1,5 cm², é o outro parâmetro utilizado para estratificar os pacientes de alto risco de recidiva (THOMPSON et al., 2016). Pacientes com idade superior a três anos, sem a presença de metástase ao diagnóstico e que tiveram ressecção tumoral total ou quase total (tumor residual inferior a 1,5 cm²) são classificados como pacientes de médio risco de recidiva e submetidos a tratamentos menos agressivos.

Apesar desta classificação ser muito utilizada na clínica, seu poder prognóstico não é totalmente eficaz, sendo observada a progressão tumoral em cinco anos de 20% dos pacientes de médio risco e até 60% dos pacientes de alto risco (GAJJAR et al., 2006; PACKER et al., 2006; TAYLOR et al., 2005; ZELTZER et al., 1999). Neste sentido, o uso de indicadores moleculares de prognóstico tem sido sugerido para complementar esta estratificação clínica de rotina e melhor avaliar procedimentos terapêuticos a serem adotados. A detecção de expressão positiva do gene codificador do fator de pluripotência OCT4 em meduloblastoma, por exemplo, foi recentemente

proposta para identificar pacientes clinicamente classificados como de baixo risco, mas que podem não responder bem ao tratamento padrão e apresentar evolução clínica desfavorável, típica de pacientes de alto risco (RODINI et al., 2012). Como apontado adiante, outros indicadores de prognóstico têm sido discutidos para embasar a escolha da modalidade terapêutica mais indicada.

1.3.2. CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO MEDULOBLASTOMA

Em 2007, a OMS classificou o meduloblastoma em cinco subtipos histológicos distintos: (1) clássico, (2) desmoplásico/nodular, (3) com extensa nodularidade, (4) anaplásico e (5) de células-grandes (LOUIS et al., 2007).

O perfil histopatológico de meduloblastoma clássico (Figura 1A), observado em aproximadamente 73% dos casos (ELLISON, 2010), é caracterizado pela presença de pequenas células redondas ou elipsoides com núcleos hipercromáticos redondos a ovais e alta razão núcleo-citoplasma (BOROWSKA; JÓŹWIAK, 2016; GILBERTSON; ELLISON, 2008). Podem também ser observadas estruturas como rosetas ou estruturas em paliçadas em alguns tumores clássicos de meduloblastoma (ELLISON, 2010).

Os tumores classificados como nodular/desmoplásico (Figura 1B) e meduloblastoma com extensa nodularidade (Figura 1D) são comumente classificados como um único grupo, geralmente denominado desmoplásico, caracterizados pela formação de duas estruturas histológicas distintas no interior do tumor: uma região internodular, formada por células indiferenciadas altamente proliferativas, e regiões nodulares, compostas por células neurocíticas diferenciadas com baixa taxa mitótica e podendo apresentar deposição de colágeno pericelular (desmoplasia) (BOROWSKA; JÓŹWIAK, 2016; GILBERTSON; ELLISON, 2008). Os tumores desmoplásicos correspondem a aproximadamente 10% dos diagnósticos de meduloblastomas e são considerados os de melhor prognóstico dentre esses subtipos histológicos, com sobrevida livre da doença em cinco anos de 82% (ELLISON, 2010) (MASSIMINO et al., 2013).

Os tumores anaplásicos e de células-grandes (Figura 1C) também são agrupados como um único subtipo, visto que todos os meduloblastomas de células-grandes apresentam anaplasia em seu perfil histológico (GILBERTSON; ELLISON, 2008). Os tumores de células-grandes/anaplásico representam 17% de todos os diagnósticos (ELLISON, 2010) e correspondem ao subtipo histológico com pior prognóstico, caracterizado por grande heterogeneidade celular, perfil indiferenciado (LAMONT et al., 2004; MASSIMINO et al., 2013) e maior propensão a metástase (BOROWSKA; JÓŹWIAK, 2016). A histopatologia desse subtipo tumoral é caracterizada pela presença de células grandes e redondas, pouco diferenciadas, com pleomorfismo nuclear e nucléolo proeminente, além de regiões com alta densidade de células poliédricas. As células apresentam maior índice mitótico e apoptótico que as células dos demais subtipos histológicos (BOROWSKA; JÓŹWIAK, 2016; GILBERTSON; ELLISON, 2008).

Apesar de muito utilizado na clínica, o perfil histopatológico ainda possui falhas quanto a classificação dos pacientes em relação ao prognóstico esperado. Com isso, a OMS em conjunto com os mais respeitados grupos de pesquisa neuro-oncológica definiram novas classificações para o meduloblastoma, considerando-se parâmetros clínicos e histopatológicos em associação com perfis moleculares (LOUIS et al., 2016) para a estratificação de riscos, definição de abordagens terapêuticas e desenho de novos testes clínicos (RAMASWAMY et al., 2016b).

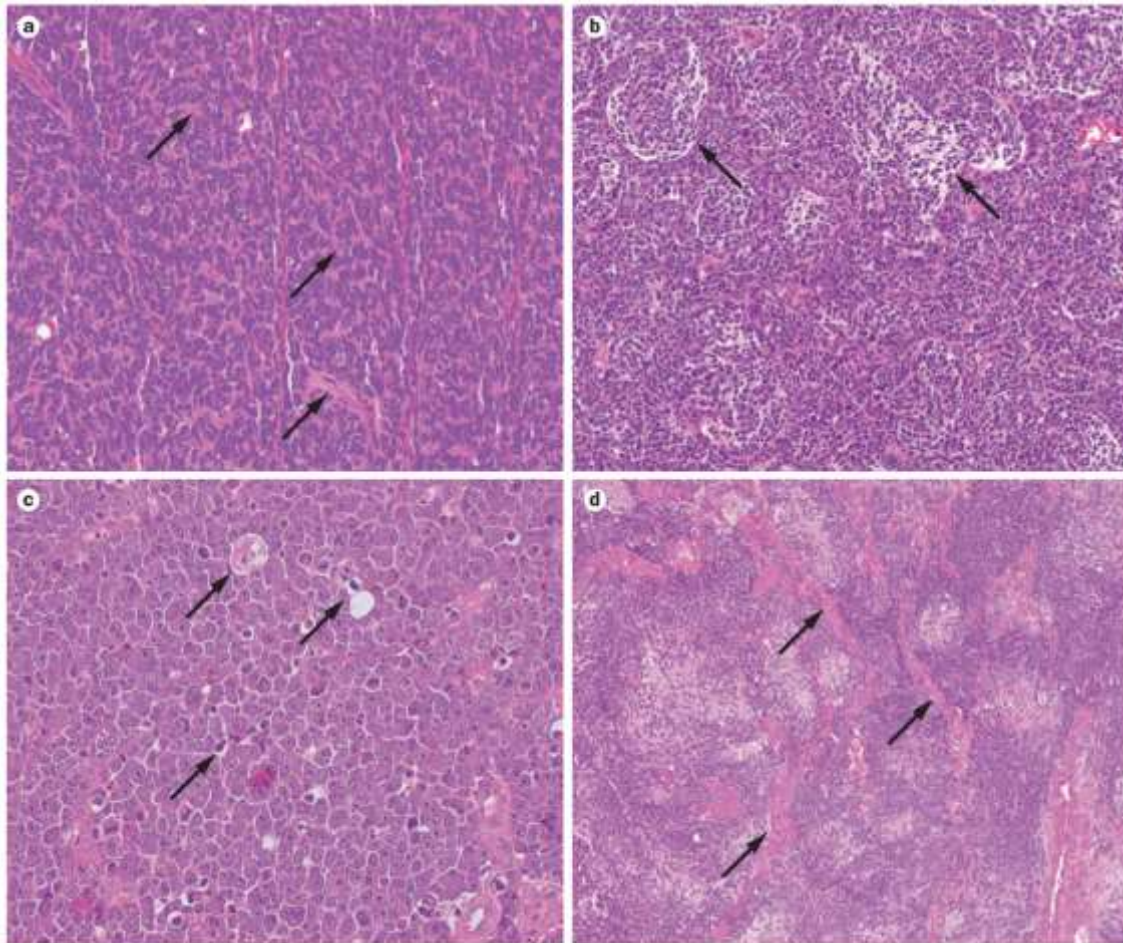


Figura 1 - Classificação histopatológica de medulloblastoma. (A) Medulloblastoma Clássico: composto por pequenas células arredondadas ou elipsoides com alta razão núcleo citoplasma. Organizam-se em linhas paralelas e podem apresentar estruturas em paliçadas ou rosetas de Homer-Wright (seta). **(B)** Medulloblastoma Nodular/Desmoplásico: formado por duas regiões distintas, uma região internodular de células hiper Cromáticas, e região de estruturas em paliçadas composta por células neuronais em diferenciação (seta). **(C)** Medulloblastoma Anaplásico e de Células-Grandes: composto por células grandes, volume variável de citoplasma e pleomorfismo nuclear (seta). **(D)** Medulloblastoma com Extensa Nodularidade: Assim como o medulloblastoma nodular desmoplásico, apresenta região nodular e região internodular com a presença de fibras de colágeno (seta). Fonte: NORTHCOTT et al., 2012a.

1.3.3. CLASSIFICAÇÃO MOLECULAR DO MEDULOBLASTOMA

Evidências de alterações moleculares que favorecem a patogênese do medulloblastoma já eram descritas desde 1990, como a formação de isocromossomo 17p e amplificação de *C-MYC* (BIGNER; VOGELSTEIN, 1990), bem como a associação com doenças síndrômicas como Gorlin e Turcot (EVANS et al., 1991; MORI et al., 1994). No entanto, com o advento de novas tecnologias genômicas e o estabelecimento do projeto genoma do câncer de tumores do SNC, foi possível a identificação de subgrupos moleculares e suas correlações com parâmetros clínicos e prognósticos de medulloblastoma. Primeiramente sugerido em 2011, o medulloblastoma foi classificado em quatro

subgrupos moleculares: Grupo WNT, Grupo SHH, Grupo 3 e Grupo 4 (NORTHCOTT et al., 2011).

O grupo WNT, diagnosticado em 10% dos pacientes com meduloblastoma, é o subgrupo molecular com melhor prognóstico e raramente apresenta metástase. Molecularmente, os tumores do subgrupo WNT são caracterizados por mutações somáticas no gene *CTNNB1*, favorecendo o acúmulo de β -CATENINA nuclear e hiperativação da via de sinalização WNT. A análise citogenética de meduloblastoma WNT apresenta, principalmente, monossomia do cromossomo 6 e o subtipo histológico do tumor é predominantemente o da forma clássica (NORTHCOTT et al., 2012a). Pacientes com síndrome de Turcot possuem mutações germinativas em *APC*, cuja proteína truncada favorece a translocação de β -CATENINA citoplasmática para o núcleo e consequente ativação da via WNT. Tais pacientes apresentam maior predisposição a formação de pólipos que podem progredir à formação de câncer colorretal e também apresentam 92 vezes mais chances de desenvolvimento de meduloblastoma que a população em geral (HAMILTON et al., 1995).

Os pacientes diagnosticados com tumores do subgrupo SHH representam 30% dos casos, cujo prognóstico é intermediário com uma sobrevida média em cinco anos de 75% dos pacientes (NORTHCOTT et al., 2012b; TAYLOR et al., 2012) e, na maioria dos casos, sem metástase ao diagnóstico. Os tumores apresentam hiperativação da via de sinalização *Sonic-Hedgehog* (SHH) devido a mutações somáticas em genes codificadores de componentes importantes dessa via, como *PTCH1/2*, *SMO*, *GLI2* e *SUFU* (NORTHCOTT et al., 2012a; RAMASWAMY et al., 2016b). Os pacientes com síndrome de Gorlin, caracterizada pela perda de função do receptor transmembrana *PTCH*, apresentam manifestações clínicas como anomalias do desenvolvimento e maior incidência a neoplasias, dentre elas, o meduloblastoma (TAYLOR; MAINPRIZE; RUTKA, 2000). Citogeneticamente, os tumores do subgrupo SHH apresentam, em sua maioria, deleção de 9q e amplificação de *MYCN* (NORTHCOTT et al., 2012a). Devido aos conhecimentos recentes sobre a caracterização molecular de meduloblastoma, novas abordagens terapêuticas vêm sendo testadas, sendo o subgrupo SHH de tumores o mais estudado em

ensaios clínicos, com inibidores específicos de SMO (BERMAN et al., 2002; ROMER et al., 2004; SASAI et al., 2007)

Os subgrupos 3 e 4 são molecularmente mais heterogêneos quando comparados aos subgrupos WNT e SHH. Por esse motivo, em nova proposta de estratificação, ambos são agrupados e chamados como grupo não-SHH/WNT (LOUIS et al., 2016; RAMASWAMY et al., 2016b). Os pacientes do grupo 3 são os que apresentam o pior prognóstico, com presença de metástase em aproximadamente 50% dos casos (KOOL et al., 2012). Os tumores do subgrupo 3 apresentam amplificações de *MYC*, com consequente expressão aberrante deste oncogene, e alta instabilidade genômica, observada por grandes perdas e ganhos de segmentos cromossômicos, sendo perda de 10q, 11, 16q e 7p, e ganho de 1q, 7 e 17q as mais frequentes (KOOL et al., 2012; NORTHCOTT et al., 2012b).

O subgrupo 4 é o mais comum, representando aproximadamente 35% dos casos. No entanto, é o menos caracterizado em relação a alterações moleculares e fenotípicas. Os pacientes apresentam prognóstico intermediário, com sobrevida em cinco anos estimada de 75% e frequentemente apresentam metástase ao diagnóstico (31%). A principal alteração citogenética desse subgrupo é a presença de isocromossomo 17 e deleções de 17p (KOOL et al., 2012), além de amplificações de *MYCN* e *CDK6*, com predominante expressão de genes envolvidos no desenvolvimento neuronal (NORTHCOTT et al., 2012b).

Atualmente, muito se sabe sobre perfis de expressão gênica e alterações genéticas e moleculares do meduloblastoma. No entanto, o meduloblastoma é um tipo tumoral cujas taxas de mutações são relativamente baixas quando comparadas a outros tumores, como por exemplo, melanomas (JONES et al., 2012; PUGH et al., 2012). Foi observado que, apesar de baixas as taxas de mutações, muitas delas ocorrem em genes reguladores de cromatina (HOVESTADT et al., 2014; HUETHER et al., 2014; KOOL et al., 2014), indicando que alterações epigenéticas devem desempenhar papel importante na etiologia e patogênese do meduloblastoma (MILLER et al., 2011; SHI et al., 2014). De fato, o padrão de metilação do DNA pode ser utilizado para a identificação dos

subgrupos moleculares (HOVESTADT et al., 2014), sendo inclusive sugerido como método diagnóstico por neuro-oncologistas no momento da estratificação dos pacientes (RAMASWAMY et al., 2016b).

Um resumo das principais alterações moleculares e manifestações clínicas dos subgrupos moleculares de meduloblastoma é apresentado na Figura 2.

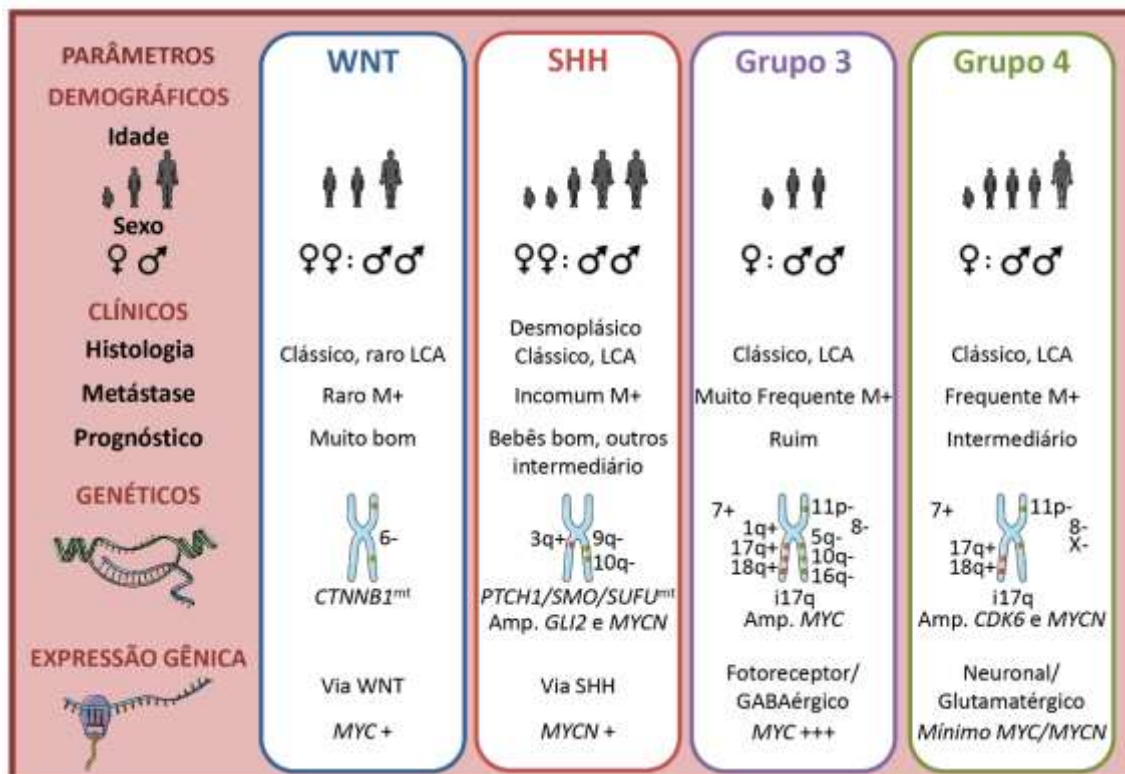


Figura 2 - Classificação molecular de meduloblastoma. Comparação de parâmetros demográficos, clínicos e genéticos dos subgrupos moleculares de meduloblastoma. LCA: Meduloblastoma Anaplásico/Células-Grandes. Adaptado de: TAYLOR et al., 2012.

1.3.4. DESENVOLVIMENTO CEREBELAR E MEDULOBLASTOMA

O meduloblastoma foi primeiramente descrito por Bailey e Cushing em 1925 como um tumor que se desenvolvia de pequenas células azuis no cerebelo (BAILEY; CUSHING, 1925). Desde essa época, acreditava-se que o meduloblastoma era formado pela transformação maligna de células-tronco multipotentes que faziam parte do tubo neural primitivo, denominadas meduloblastos (RUTKA; HOFFMAN, 1996). Hoje, sabe-se que o meduloblastoma é um tumor de origem embrionária, localizado supratentorialmente na fossa posterior e que possui desregulação de vias de

sinalização implicadas no desenvolvimento do SNC, particularmente atuantes em células progenitoras cerebelares. A combinação de diferentes vias de sinalização alteradas, bem como diferentes células de origem, contribui para a heterogeneidade intertumoral observada no meduloblastoma (LETO et al., 2015).

Durante o processo de desenvolvimento do cerebelo, inicia-se um processo complexo de neurogênese e movimentação celular para formar a estrutura laminar do cerebelo. A camada dorso medial da zona ventricular dá origem às células de Purkinje, neurônios cerebelares do núcleo e interneurônios cerebelares, e uma segunda camada, próxima aos lábios rômnicos, dará origem aos neurônios granulares cerebelares e uma subpopulação de neurônios do núcleo. Durante o período embrionário, células progenitoras presentes nos lábios rômnicos migram dorsalmente pela superfície do cerebelo para dar origem à camada granular externa. As células progenitoras granulares da camada granular externa iniciam um processo de expansão e intensa proliferação para dar origem aos neurônios granulares cerebelares, sendo que mitógenos como SHH e NOTCH2 desempenham papel fundamental durante esse processo de expansão clonal da camada granular externa. Já no início do período pós-natal, as células progenitoras granulares iniciam o processo de diferenciação e migram através da camada de células de Purkinje para dar origem a camada granular interna (Figura 3) (GILBERTSON; ELLISON, 2008; MARINO, 2005; ROUSSEL; HATTEN, 2011). Além das células precursoras granulares, outras populações de células-tronco neurais e células progenitoras já foram observadas em diferentes regiões do cerebelo e tronco encefálico (FINK et al., 2006; LEE et al., 2005; WANG; ROSE; ZOGHBI, 2005).

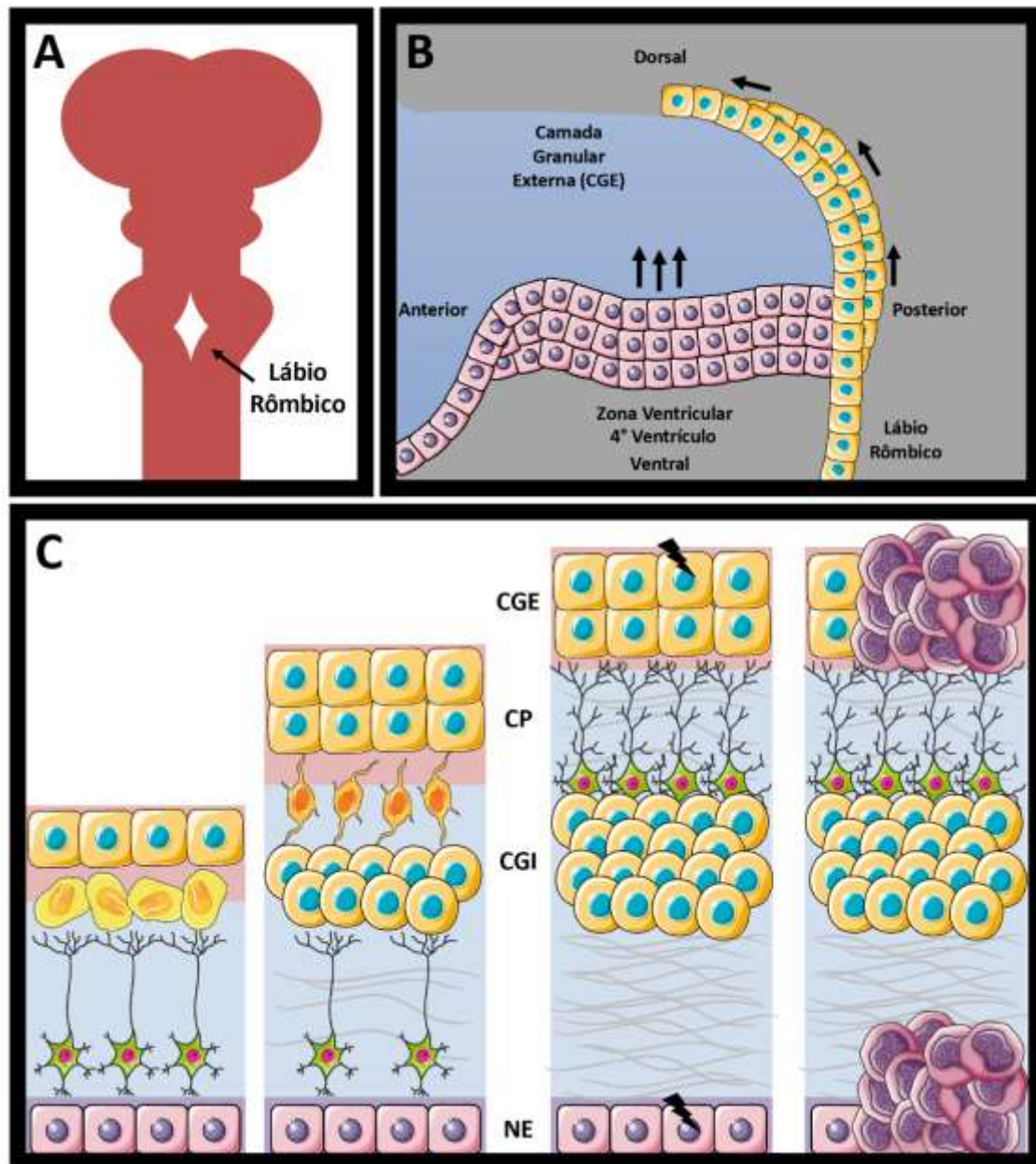


Figura 3 - Desenvolvimento cerebelar e meduloblastoma. (A-B) Durante o desenvolvimento embrionário, as células progenitoras localizadas na região ventricular do metencéfalo migram radialmente para dar origem às células de Purkinje (CP). As células progenitoras do lábio rômbico migram dorsalmente para dar origem à camada granular externa (CGE). **(C)** Durante o período pós-natal, as células granulares progenitoras da CGE proliferam intensivamente, diferenciam e migram através da camada de células de Purkinje para dar origem à camada granular interna (CGI). O meduloblastoma origina-se do desenvolvimento anormal de células granulares progenitoras da CGE ou do neuroepitélio (NE). Adaptado de: MARINO, 2005.

Sabe-se que o desenvolvimento anormal das células granulares cerebelares da camada granular externa está envolvido na tumorigênese de meduloblastoma do subgrupo molecular SHH (SCHÜLLER et al., 2008; YANG et al., 2008). Em relação aos tumores do subgrupo WNT, acredita-se que o seu surgimento decorra da transformação maligna de células-tronco neurais presentes na camada inferior do lábio rômbico e tronco encefálico, sugerindo

uma origem extracerebelar para o meduloblastoma (GIBSON et al., 2010). Os tumores identificados como do subgrupo molecular 3 demonstraram forte correlação com perfil de expressão gênica de células mais indiferenciadas, observado principalmente em células-tronco neurais, células-tronco embrionárias (CTE) e células-tronco pluripotente induzidas (do inglês, *Induced Pluripotent Stem Cells* iPSCs) (KAWAUCHI et al., 2012; PEI et al., 2012). A inoculação de células progenitoras granulares foi capaz de dar origem a tumores do subgrupo 3 após superexpressão de *MYC*. No entanto, as células tumorais apresentavam perda da expressão do marcador de diferenciação de células granulares *ATOH-1*, e passaram a expressar o marcador de células-tronco neurais CD133 (também conhecido como Prominina-1, do inglês *Prominin-1*), indicando que o processo de desdiferenciação dessas células pode ser um processo importante na tumorigênese de meduloblastoma do subgrupo 3 (Figura 4) (KAWAUCHI et al., 2012).

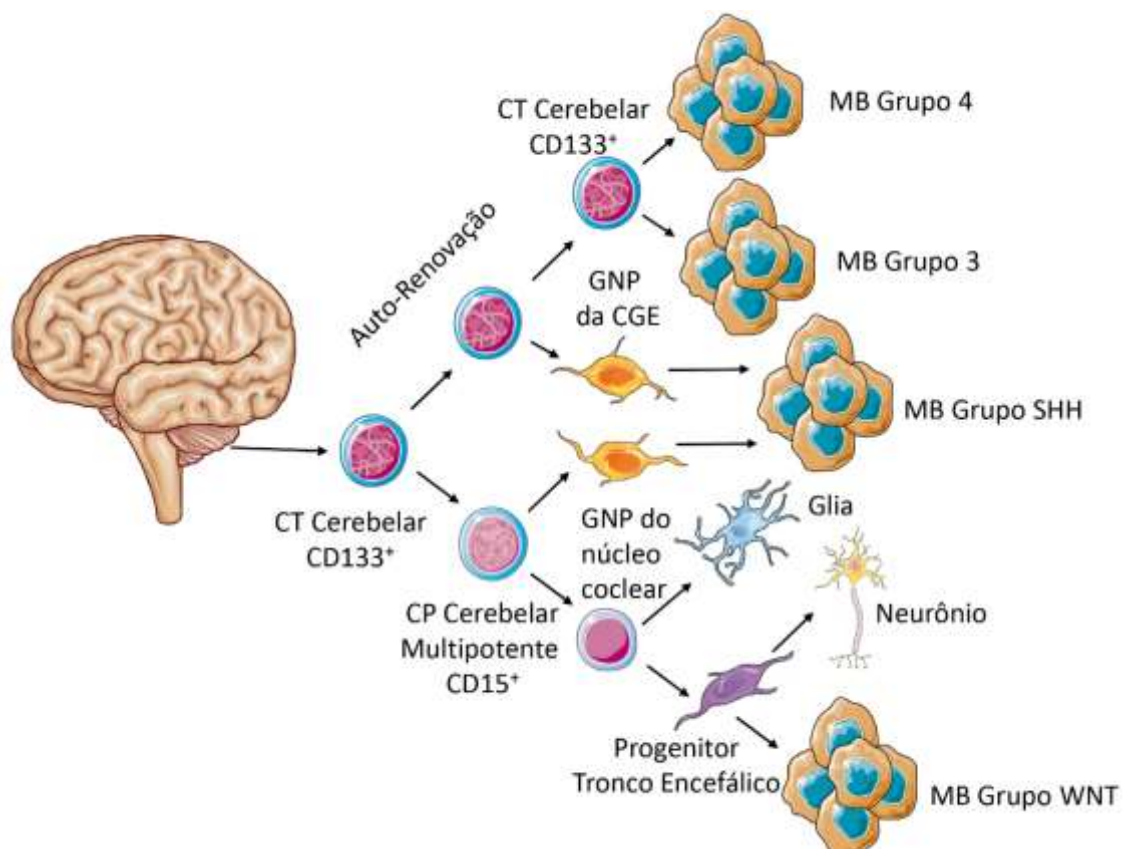


Figura 4 - Células de origem do meduloblastoma e subgrupos moleculares. O meduloblastoma ocorre a partir do desenvolvimento anormal de células-tronco e progenitoras do SNC. O esquema proposto por Manoranjan e colaboradores resume as recentes evidências das células de origem do meduloblastoma e sua correlação com subgrupos moleculares. CT: Célula-Tronco; CP: Célula Progenitora; MB: Meduloblastoma; GNP: Precursor de Neurônio Granular; CGE: Camada Granular Externa. Adaptado de: MANORANJAN et al., 2013.

1.4. CÉLULAS-TRONCO TUMORAIS

O modelo estocástico ou clonal de tumorigênese propõe que alterações genéticas ocorrem em uma única célula normal do tecido, favorecendo sua expansão clonal e consequente formação do tumor. A heterogeneidade observada na massa tumoral pode ser explicada pela aquisição de novas mutações devido à instabilidade genômica e alta proliferação, com consequente formação de novos clones capazes de favorecer a progressão tumoral (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Além disso, a heterogeneidade tumoral observada nesse modelo credita a pressão seletiva do ambiente e maior adaptação de subpopulações celulares para a formação da massa tumoral. Assim, subclones mais agressivos e mais bem adaptados às pressões microambientais moldariam a heterogeneidade inter e intratumoral (BURRELL et al., 2013; CAIRNS, 1975; NOWELL, 1976). Nesse modelo de evolução clonal, todas ou a maioria das células tumorais têm a mesma potencialidade para formar um novo tumor em um novo microambiente ou quando transplantado, por exemplo, em um animal de laboratório.

Um modelo alternativo de tumorigênese descrito mais recentemente propõe que as células tumorais diferem em sua capacidade de gerar e propagar tumores. Nesse modelo, uma pequena subpopulação de células, denominadas de células-tronco tumorais (CTT), são as principais células responsáveis pelo desenvolvimento tumoral. Tais células possuem propriedades semelhantes às de células-tronco normais dos respectivos tecidos primários em que os tumores residem, porém apresentam aberrações em processos como auto-renovação e diferenciação celular (REYA et al., 2001; CLARKE e FULLER, 2006; O'BRIEN et al., 2010). Por serem principalmente caracterizadas por sua alta tumorigenicidade, as CTT também são conhecidas como células iniciadoras de tumor. Além disso, as CTT também são capazes de originar os diversos subclones celulares que contribuem para a heterogeneidade tumoral (MANORANJAN *et al.*, 2012; VISVADER & LINDEMAN, 2012). A apresentação celular hierárquica de muitos tumores fundamenta esse modelo. As CTT foram inicialmente descritas em leucemias na década de 1970 (PIERCE; WALLACE, 1971) e isoladas somente duas décadas depois, em meados de 1990 (BONNET;

DICK, 1997; LAPIDOT et al., 1994). Em tumores sólidos, a identificação e isolamento de CTT ocorreu primeiramente em tumor de mama e em tumores do SNC (AL-HAJJ et al., 2003; SINGH et al., 2003). As estratégias iniciais para o isolamento de CTT baseavam-se na identificação e separação celular com o auxílio de marcadores de superfície específicos, como CD133 para tumores do SNC, e CD34 e CD38 para leucemia mieloide aguda (BONNET; DICK, 1997; SINGH et al., 2003). Além da capacidade de auto-renovação e diferenciação celular, as CTT possuem outras propriedades importantes para a progressão tumoral, como maior resistência a quimioterápicos e morte celular (BAO et al., 2006) e transição epitélio-mesenquimal (do inglês *Epithelial-to-Mesenchymal Transition*, TEM), favorecendo o processo de invasão tecidual e metástase (CHAFFER et al., 2013).

Vale destacar que a origem das CTT ainda é debatida. Muitos pesquisadores já apontaram as células-tronco e progenitores normais como células de origem para a transformação neoplásica. Reya e colaboradores inclusive postularam que a permanência de células-tronco por um longo período no tecido facilitaria o acúmulo de mutações necessárias para a sua transformação neoplásica (REYA et al., 2001). Alternativamente, em alguns tipos de tumores, as CTT podem se originar a partir de células diferenciadas do tecido de origem ou do próprio tumor que, após a aquisição de mutações genéticas, epigenéticas e estímulos do ambiente, podem sofrer um processo de desdiferenciação e, assim, adquirirem a capacidade de se dividirem assimetricamente e dar origem aos diferentes subclones tumorais (MANI et al., 2008; SCAFFIDI; MISTELI, 2011). Esse mecanismo foi sumarizado e proposto por Vermeulen e colaboradores como um modelo dinâmico da geração de CTT (Figura 5), enfatizando a ação de fatores intrínsecos e extrínsecos como ativação de vias importantes de sinalização celular e ação do microambiente tumoral (Figura 6) (VERMEULEN et al., 2008, 2012).

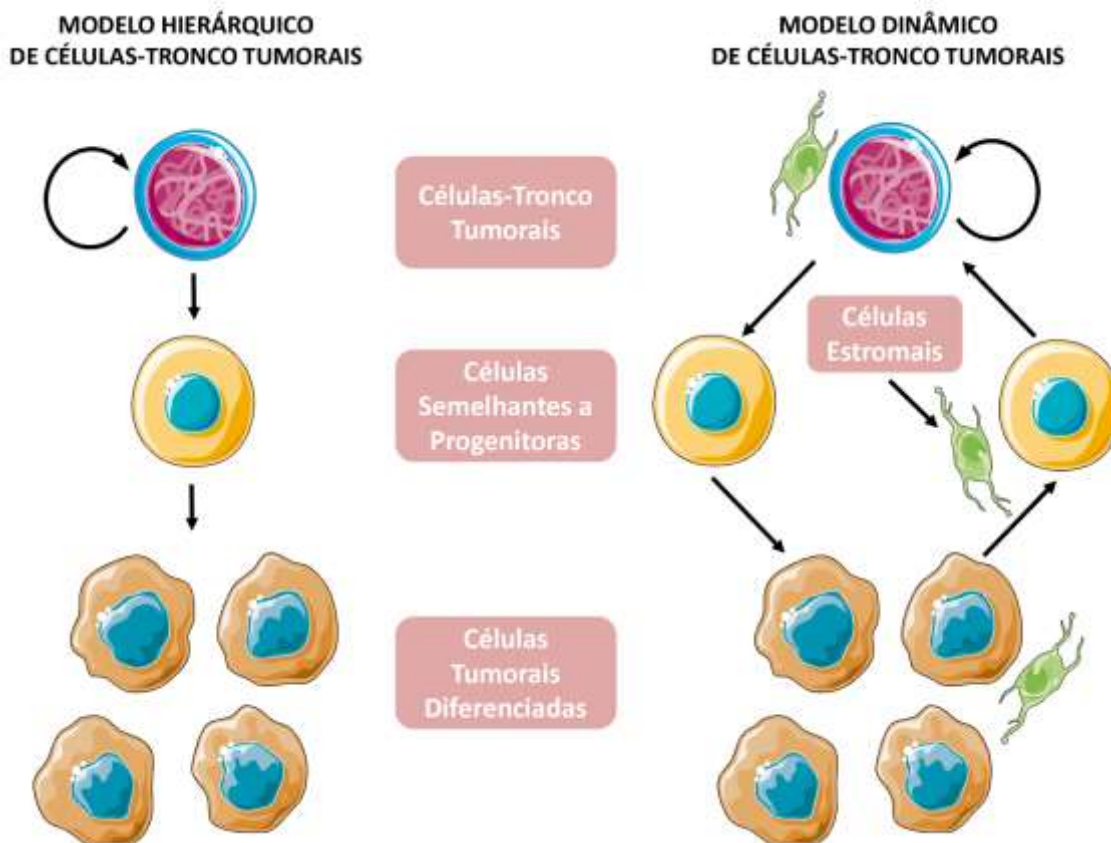


Figura 5 - Modelo de células-tronco tumorais. (A) Modelo hierárquico de CTT postula que um *pool* de CTT proliferam assimetricamente para dar origem a uma célula idêntica (auto-renovação) e uma célula progenitora. As células progenitoras iniciam o processo de diferenciação e dão origem às células tumorais diferenciadas que compõe a massa tumoral. **(B)** O modelo dinâmico de CTT postula que células e fatores do microambiente tumoral, aqui representado por células estromais, modulam o fenótipo celular e favorecem a des-diferenciação de células tumorais diferenciadas e/ou progenitoras ao estágio de CTT. Adaptado de: VERMEULEN et al., 2012.

Esse modelo dinâmico de geração de CTT tem implicações clínicas importantes com relação a resistência a tratamentos e recidivas tumorais. Visto que qualquer célula tumoral poderia sofrer o processo de des-diferenciação e, assim, tornar-se uma CTT, mesmo com a utilização de drogas específicas para a erradicação dessas células, novas CTT poderiam ser formadas após o tratamento e, dessa forma, contribuir para a recorrência tumoral (VERMEULEN et al., 2012). Portanto, é fundamental entender os mecanismos pelos quais células tumorais podem adquirir propriedades de CTT.

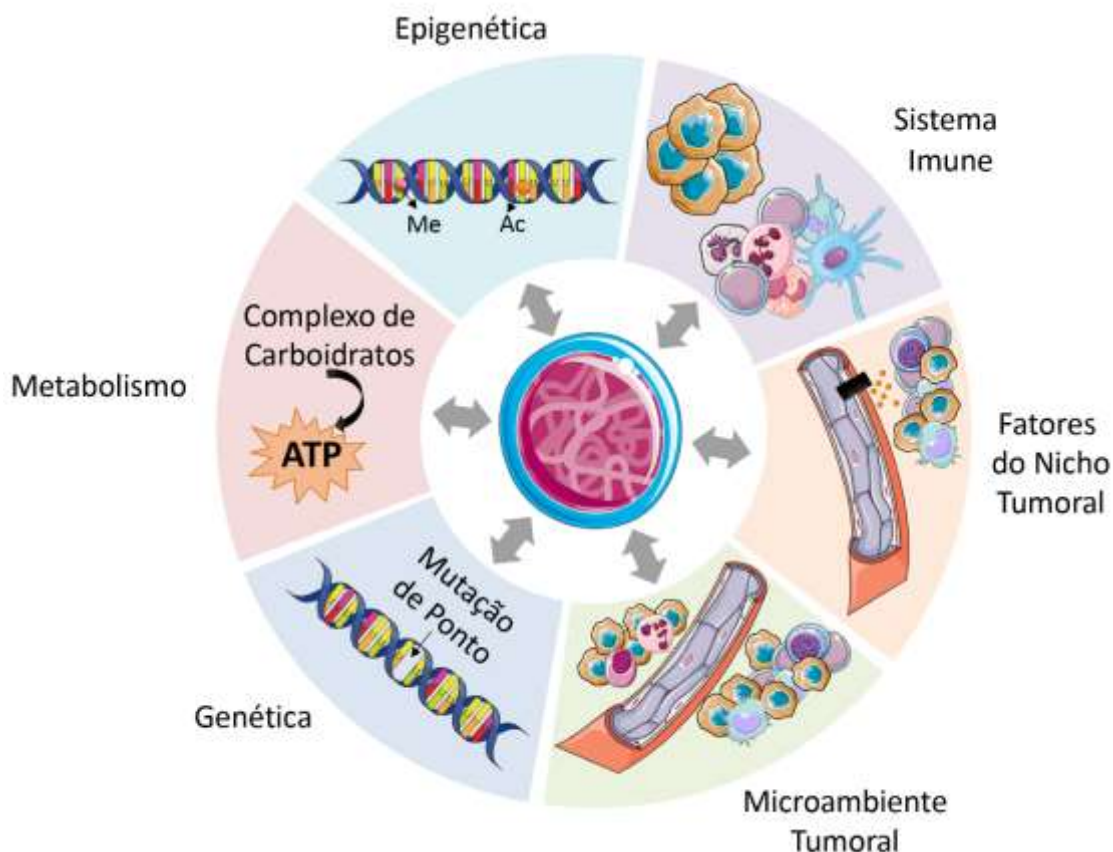


Figura 6 - Regulação de células-tronco tumorais. Fatores que influenciam e regulam o fenótipo de CTT. Fatores intrínsecos incluem a influência da genética, epigenética e metabolismo celular e fatores extrínsecos incluem a interação com o microambiente tumoral, fatores liberados no nicho tumoral e interação com células do sistema imune. Adaptado de: LATHIA et al., 2015.

1.4.1. CÉLULAS-TRONCO TUMORAIS E MEDULOBLASTOMA

As CTT foram inicialmente identificadas em tumores do SNC por Singh e colaboradores (2003) com base na expressão do marcador de superfície CD133 (SINGH et al., 2003). As células positivas para CD133 derivadas de gliomas e meduloblastoma demonstraram capacidade de formação de esferas tumorais *in vitro* (SINGH et al., 2003) e maior tumorigenicidade quando transplantadas em camundongos imunodeficientes (SINGH et al., 2004).

Além da expressão de marcadores de superfície típicos de células-tronco normais, as CTT também são caracterizadas pela expressão de genes envolvidos na manutenção da pluripotência e em vias de sinalização implicadas no desenvolvimento do organismo (RODINI et al., 2010). Expressão aberrante de componentes da via NOTCH, SHH e WNT foram implicadas no aumento da tumorigênese e aquisição de fenótipo de CTT em câncer de pele

(MALANCHI et al., 2008), câncer de mama (MAJUMDER et al., 2016; YANG et al., 2016) câncer gástrico (XU et al., 2015), câncer de pulmão (BORA-SINGHAL et al., 2015; YAO et al., 2016), câncer colorretal (VERMEULEN et al., 2010), entre outros. Em meduloblastoma, o distúrbio no funcionamento normal de WNT e SHH estão envolvidos na tumorigênese e progressão tumoral (EVANS et al., 1991; HAMILTON et al., 1995; KIMURA et al., 2005; MACDONALD, 2012; MASCARO CORDEIRO et al., 2014; VALDORA et al., 2013).

A expressão de marcadores típicos de células-tronco pluripotentes, como *POU5F1*, *SOX2*, *LIN28* e *NANOG* também já foi correlacionada com pior prognóstico em diversos tipos tumorais (BEN-PORATH et al., 2008; NAKANO, 2015; SHAYKHIEV et al., 2013; SMITH et al., 2015; WONG et al., 2008), incluindo-se meduloblastoma (HOVESTADT et al., 2014; PICARD et al., 2012; RODINI et al., 2012; VANNER et al., 2014). De fato, a expressão aberrante de *POU5F1* em aproximadamente 50% de amostras de meduloblastoma evidenciou forte correlação com menor sobrevida global dos pacientes (RODINI et al., 2012). Tal correlação entre expressão aberrante de *POU5F1* e prognóstico desfavorável sugere funções pró-oncogênicas relevantes ao OCT4, justificando estudos funcionais detalhados que ainda inexistem na literatura corrente.

1.5. FATOR DE PLURIPOTÊNCIA OCT4

O OCT4, também conhecido como OCT3 ou OCT3/4, é um fator de transcrição membro da família POU, codificado pelo gene *POU5F1*. O OCT4 favorece a transcrição de certos genes alvos envolvidos na regulação dos processos de diferenciação celular e manutenção da pluripotência.

A expressão de OCT4 foi inicialmente observada em 1989 por Lenardo e colaboradores em amostras de carcinoma embrionário (LENARDO et al., 1989) e, em estudos posteriores, foi demonstrado que a expressão de OCT4 ocorre predominantemente em CTE (NICHOLS et al., 1998; PESCE; SCHÖLER, 2000). Para a manutenção da pluripotência e regulação do processo de diferenciação, os níveis de OCT4 devem ser finamente controlados: níveis normais mantêm as células em estado pluripotente, enquanto que a elevação

dos níveis favorece a diferenciação para linhagens da mesoderme ou endoderme, e a diminuição nos níveis de OCT4 favorece a diferenciação para células da trofotoderma (NIWA; MIYAZAKI; SMITH, 2000). O processo de regulação de pluripotência e diferenciação envolve a associação do OCT4 com diversos outros fatores de transcrição, em uma rede complexa de interações (PARDO et al., 2010; RIZZINO, 2013; SHI; JIN, 2010).

Além do seu papel na manutenção da pluripotência de CTE, o OCT4, em associação com outros fatores de transcrição, foi capaz de induzir pluripotência em células somáticas (TAKAHASHI et al., 2007; TAKAHASHI; YAMANAKA, 2006; YU et al., 2007). A superexpressão ectópica de apenas OCT4 também foi capaz de induzir pluripotência em células-tronco neurais (KIM et al., 2009).

O gene *POU5F1* pode gerar três transcritos por meio de *splicing* alternativo, denominados *Oct4A*, *Oct4B* e *Oct4B1* (TAKEDA; SEINO; BELL, 1992). O transcrito *Oct4B* possui um sítio alternativo de reconhecimento pelo ribossomo e, assim, é capaz de gerar três proteínas distintas a partir de um mesmo mRNA OCT4B-265, OCT4B-190 e OCT4B-164 (TAKEDA; SEINO; BELL, 1992; WANG et al., 2009; ZHANG et al., 2010). A proteína OCT4A difere das proteínas geradas por *Oct4B* e *Oct4B1* pela sua porção N-terminal, visto que apenas o transcrito *Oct4A* possui o éxon 1, enquanto o éxon 2A é comum a apenas os transcritos *Oct4B* e *Oct4B1* (Figura 7).

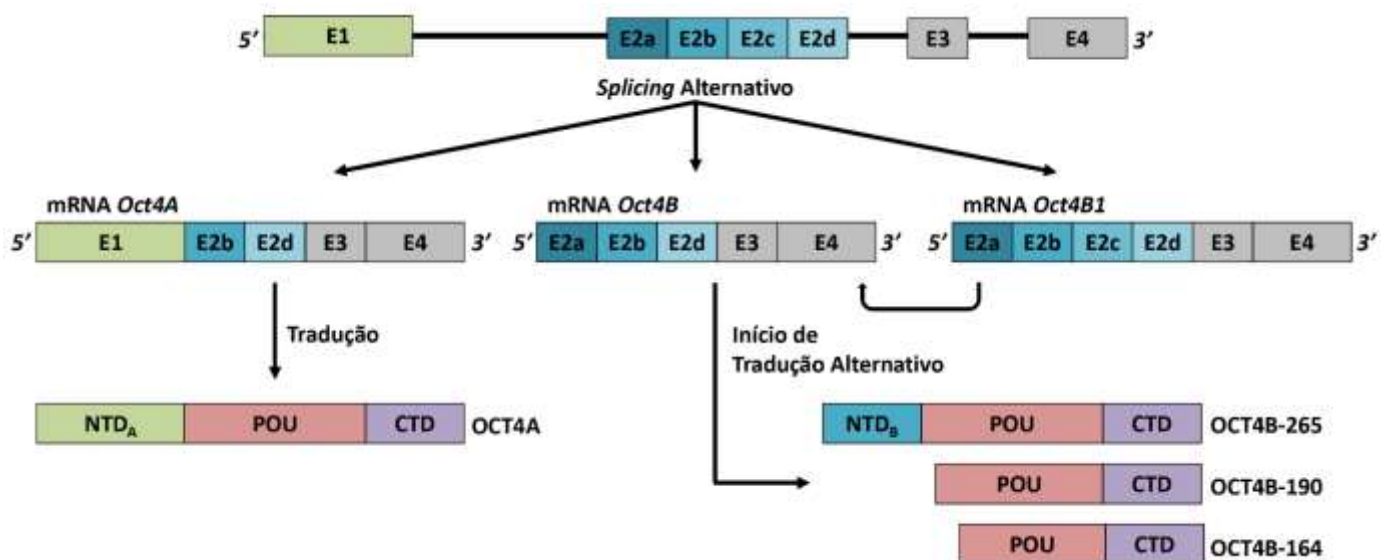


Figura 7 - Representação gráfica do gene *POU5F1* e os produtos derivados de *splicing* alternativo. O gene *POU5F1*, localizado no cromossomo 6, é composto por 4 éxons. O mRNA sofre processamento de *splicing* alternativo, dando origem a três transcritos alternativos: *Oct4A*, *Oct4B* e *Oct4B1*. O transcrito *Oct4A* é o único que possui o éxon E1. O transcrito *Oct4B1* difere de *Oct4B* por meio de da incorporação de um íntron, representado na figura como E2c. O transcrito *Oct4B* possui um sítio alternativo de início de tradução, capaz de gerar três proteínas distintas (Oct4B-164, Oct4B-190 e Oct4B265). O transcrito *Oct4B1* é relativamente novo, descrito por Atlasi e colaboradores em 2008 (ATLASI et al., 2008), e recentemente foi proposto que os produtos originados de *Oct4B1* são os mesmos de *Oct4B*. Adaptado de: JERABEK et al., 2014.

A isoforma mais bem conhecida e que desempenha funções de manutenção de pluripotência em CTE é a OCT4A, cuja localização subcelular é nuclear (LEE et al., 2006; TSAI et al., 2014b; ZHANG et al., 2010). As funções das isoformas codificadas por *Oct4B* e *Oct4B1* ainda são pouco conhecidas, mas já foram correlacionadas com estresse genotóxico e indução de apoptose (ASADI et al., 2011; FARASHAHI YAZD et al., 2011; GAO et al., 2012; WANG et al., 2009; ZHANG et al., 2010). Devido às respectivas diferenças de funções, distinguir as diferentes isoformas de *POU5F1* em estudos se faz necessário para evitar associações incorretas entre expressão e fenótipo observado (WANG; DAI, 2010).

No câncer, diversos trabalhos correlacionaram a expressão de *POU5F1* com prognóstico de pacientes com diferentes tipos tumorais. A expressão aumentada de *POU5F1* foi correlacionada com pior sobrevida e maior agressividade em tumores de bexiga (HATEFI et al., 2012), carcinoma hepatocelular (DONG et al., 2012; YIN et al., 2013), mama (HASSIOTOU, et al., 2013), pâncreas (WEN et al., 2010; LU et al., 2013), gliomas (DU et al., 2009; GUO et al., 2010), entre outros. Mais recentemente, com uma maior

compreensão e atenção dada as isoformas de OCT4, alguns trabalhos correlacionaram a expressão específica desses transcritos alternativos com alguns tipos tumorais, como câncer colorretal (GAZOULI *et al.*, 2011), de próstata (SOTOMAYOR *et al.*, 2009; DE RESENDE *et al.*, 2013), carcinoma hepatocelular (HUANG *et al.*, 2011) e tumores de células germinativas (RIJLAARSDAM *et al.*, 2011).

Existem, portanto, evidências apontando a relevância do fator de transcrição OCT4 na malignidade de tumores, inclusive de meduloblastoma. No entanto, não se sabe qual a contribuição específica do transcrito alternativo *Oct4A* na agressividade de tumores do SNC e, em particular, no meduloblastoma. Considerando-se a origem embrionária do meduloblastoma, evidências da contribuição de CTT à fisiopatologia desse tipo tumoral e a correlação entre expressão de OCT4 e menor sobrevida dos respectivos pacientes, o presente trabalho propôs avaliar funcionalmente a contribuição do fator de transcrição OCT4A à agressividade de meduloblastoma.

Conclusão

4. CONCLUSÃO

O desenvolvimento do presente trabalho nos possibilitou concluir que:

1. A superexpressão estável de OCT4A foi capaz de alterar significativamente propriedades tumorigênicas *in vitro* de células de meduloblastoma humano, tendo sido observado aumento da proliferação celular, aumento da capacidade de crescimento independente de ancoragem, aumento na capacidade de geração de esferas tumorais, diminuição na adesão celular, aumento na capacidade de invasão 3D em matriz de hidrogel e alterações de resistência a apoptose induzida por cisplatina;
2. A superexpressão de OCT4A também foi capaz de alterar propriedades tumorigênicas de células de meduloblastoma humano *in vivo*, conforme evidenciado pela alteração da cinética de desenvolvimento de tumores subcutâneos, geração de tumores com características anatomopatológicas de maior agressividade, e aumento da capacidade metastática no neuroeixo, em camundongos BALB/c *Nude*;
3. Em células de meduloblastoma da linhagem DAOY, os efeitos positivos sobre a capacidade de crescimento independente de ancoragem, formação de esferas tumorais e tumorigênese *in vivo* foram proporcionalmente maiores conforme o aumento do nível de superexpressão de OCT4A;
4. A superexpressão de OCT4A em células de meduloblastoma humano não alterou consistentemente a expressão dos genes *SOX2* e *LIN28A*, codificadores de fatores de pluripotência, e a capacidade de crescimento em condições de cultivo de CTE.

5. Aberrações adicionais no número de cópias cromossômicas foram observadas em algumas células de meduloblastoma com superexpressão de OCT4A. No entanto, o padrão de ganhos e perdas de segmentos cromossômicos variou conforme a linhagem celular e não houve correlação consistente com as respectivas alterações de expressão gênica global observadas após a superexpressão de OCT4A;
6. A superexpressão de OCT4A em células de meduloblastoma humano das linhagens Daoy, D283Med e USP-13-Med foi capaz de alterar, em comum, a expressão de um grupo de 141 genes envolvidos com propriedades importantes para a iniciação e progressão tumoral como crescimento celular e proliferação, movimento celular, metabolismo de drogas e morte celular. A maioria desses genes diferencialmente expressos não codifica proteínas, sendo principalmente representada por genes codificadores de *long-non coding RNAs* e *small nucleolar RNAs*.

Referências

5. REFERÊNCIAS

- ABTA. **About Brain Tumors: a Primer for Patients and Caregivers**. [s.l: s.n.].
- AL-HAJJ, M. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 7, p. 3983–3988, 1 abr. 2003.
- ASADI, M. H. et al. OCT4B1, a novel spliced variant of OCT4, is highly expressed in gastric cancer and acts as an antiapoptotic factor. **International journal of cancer. Journal international du cancer**, v. 128, n. 11, p. 2645–52, 1 jun. 2011.
- ASADZADEH, J. et al. A plausible anti-apoptotic role of up-regulated OCT4B1 in bladder tumors. **Urology journal**, v. 9, n. 3, p. 574–80, jan. 2012.
- ASKARIAN-AMIRI, M. E. et al. SNORD-host RNA Zfas1 is a regulator of mammary development and a potential marker for breast cancer. **RNA (New York, N.Y.)**, v. 17, n. 5, p. 878–91, maio 2011.
- ATCC. **ATCC® Animal Cell Culture Guide**. Disponível em: <http://www.atcc.org/guides/animal_cell_culture_guide.aspx>. Acesso em: 16 jul. 2014.
- ATLASI, Y. et al. OCT4 spliced variants are differentially expressed in human pluripotent and nonpluripotent cells. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 26, n. 12, p. 3068–74, dez. 2008.
- BAILEY, P.; CUSHING, H. Medulloblastoma Cerebelli: A Common Type of Midcerebellar Glioma of Childhood. **Archives of Neurology & Psychiatry**, v. 14, n. 2, p. 192, 1 ago. 1925.
- BALCI, T. et al. Analysis of dysregulated long non-coding RNA expressions in glioblastoma cells. **Gene**, v. 590, n. 1, p. 120–122, 2016.
- BALIK, V. et al. MEG3: a novel long noncoding potentially tumour-suppressing RNA in meningiomas. **Journal of neuro-oncology**, v. 112, n. 1, p. 1–8, mar. 2013.
- BAO, S. et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. **Nature**, v. 444, n. 7120, p. 756–760, 7 dez. 2006.
- BAO, Z. et al. Nucleostemin promotes the proliferation of human glioma via Wnt/ β -Catenin pathway. **Neuropathology: official journal of the Japanese Society of Neuropathology**, 26 nov. 2015.
- BECKER, K. A. et al. Self-renewal of human embryonic stem cells is supported by a shortened G1 cell cycle phase. **Journal of cellular physiology**, v. 209, n. 3, p. 883–93, dez. 2006.
- BELTRAN, A. S. et al. Generation of tumor-initiating cells by exogenous delivery of OCT4 transcription factor. **Breast cancer research : BCR**, v. 13, n. 5, p. R94, jan. 2011.
- BEN-DAVID, U. Genomic instability, driver genes and cell selection: Projections from cancer to stem cells. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1849, n. 4, p. 427–35, abr. 2015.

- BEN-PORATH, I. et al. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors. **Nature genetics**, v. 40, n. 5, p. 499–507, maio 2008.
- BERGMANN, J. H. et al. Regulation of the ESC transcriptome by nuclear long non-coding RNAs. **Genome research**, v. 25, n. 9, p. 1336–46, 5 jun. 2015.
- BERMAN, D. M. et al. Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. **Science (New York, N.Y.)**, v. 297, n. 5586, p. 1559–61, 30 ago. 2002.
- BIGNER, S. H.; VOGELSTEIN, B. Cytogenetics and molecular genetics of malignant gliomas and medulloblastoma. **Brain pathology (Zurich, Switzerland)**, v. 1, n. 1, p. 12–8, set. 1990.
- BONNET, D.; DICK, J. E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. **Nature Medicine**, v. 3, n. 7, p. 730–737, jul. 1997.
- BORA-SINGHAL, N. et al. Gli1-Mediated Regulation of Sox2 Facilitates Self-Renewal of Stem-Like Cells and Confers Resistance to EGFR Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. **Neoplasia (New York, N.Y.)**, v. 17, n. 7, p. 538–51, jul. 2015.
- BOROWSKA, A.; JÓŹWIAK, J. Medulloblastoma: molecular pathways and histopathological classification. **Archives of medical science : AMS**, v. 12, n. 3, p. 659–66, 1 jun. 2016.
- BRATKOVIČ, T.; ROGELJ, B. The many faces of small nucleolar RNAs. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1839, n. 6, p. 438–443, 2014.
- BURRELL, R. A. et al. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. **Nature**, v. 501, n. 7467, p. 338–345, 18 set. 2013.
- CAIRNS, J. Mutation selection and the natural history of cancer. **Nature**, v. 255, n. 5505, p. 197–200, 15 maio 1975.
- CAO, L. et al. OCT4 increases BIRC5 and CCND1 expression and promotes cancer progression in hepatocellular carcinoma. **BMC cancer**, v. 13, n. 1, p. 82, jan. 2013.
- CAWLEY, S. et al. Unbiased mapping of transcription factor binding sites along human chromosomes 21 and 22 points to widespread regulation of noncoding RNAs. **Cell**, v. 116, n. 4, p. 499–509, 20 fev. 2004.
- CHAFFER, C. L. et al. Poised Chromatin at the ZEB1 Promoter Enables Breast Cancer Cell Plasticity and Enhances Tumorigenicity. **Cell**, v. 154, n. 1, p. 61–74, jul. 2013.
- CHEN, L. et al. SNORD76, a box C/D snoRNA, acts as a tumor suppressor in glioblastoma. **Scientific reports**, v. 5, p. 8588, 2015.
- CHENG, T. Cell cycle inhibitors in normal and tumor stem cells. **Oncogene**, v. 23, n. 43, p. 7256–66, 20 set. 2004.
- CORTES-DERICKS, L. et al. Suppression of OCT4B enhances sensitivity of lung adenocarcinoma A549 cells to cisplatin via increased apoptosis. **Anticancer research**, v. 33, n. 12, p. 5365–73, dez. 2013.

- CREA, F. et al. Integrated analysis of the prostate cancer small-nucleolar transcriptome reveals SNORA55 as a driver of prostate cancer progression. **Molecular Oncology**, v. 10, n. 5, p. 693–703, 2016.
- DAI, X. et al. OCT4 regulates epithelial-mesenchymal transition and its knockdown inhibits colorectal cancer cell migration and invasion. **Oncology reports**, v. 29, n. 1, p. 155–60, jan. 2013.
- DE RESENDE, M. F. et al. Prognostication of OCT4 isoform expression in prostate cancer. **Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, v. 34, n. 5, p. 2665–73, out. 2013.
- DERRIEN, T. et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: Analysis of their gene structure, evolution, and expression. **Genome Research**, v. 22, n. 9, p. 1775–1789, 1 set. 2012.
- DI MAYORCA, G. et al. Malignant transformation of BHK21 clone 13 cells in vitro by nitrosamines--a conditional state. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, n. 1, p. 46–9, jan. 1973.
- DRIESSENS, G. et al. Defining the mode of tumour growth by clonal analysis. **Nature**, v. 488, n. 7412, p. 527–30, 23 ago. 2012.
- DU, Z. et al. Oct4 is expressed in human gliomas and promotes colony formation in glioma cells. **Glia**, v. 57, n. 7, p. 724–33, maio 2009.
- EBERHART, C. G.; BURGER, P. C. Anaplasia and grading in medulloblastomas. **Brain pathology (Zurich, Switzerland)**, v. 13, n. 3, p. 376–85, jul. 2003.
- ELLISON, D. W. Childhood medulloblastoma: novel approaches to the classification of a heterogeneous disease. **Acta neuropathologica**, v. 120, n. 3, p. 305–16, set. 2010.
- ELSIR, T. et al. A study of embryonic stem cell-related proteins in human astrocytomas: Identification of Nanog as a predictor of survival. **International Journal of Cancer**, v. 134, n. 5, p. 1123–1131, 1 mar. 2014.
- ESTELLER, M. Non-coding RNAs in human disease. **Nature Reviews Genetics**, v. 12, n. 12, p. 861–874, 18 nov. 2011.
- EUHUS, D. M. et al. Tumor measurement in the nude mouse. **Journal of Surgical Oncology**, v. 31, n. 4, p. 229–234, abr. 1986.
- EVANS, D. G. et al. The incidence of Gorlin syndrome in 173 consecutive cases of medulloblastoma. **British journal of cancer**, v. 64, n. 5, p. 959–61, nov. 1991.
- FARASHAH YAZD, E. et al. OCT4B1, a novel spliced variant of OCT4, generates a stable truncated protein with a potential role in stress response. **Cancer letters**, v. 309, n. 2, p. 170–5, 28 out. 2011.
- FATICA, A.; BOZZONI, I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development. **Nature Reviews Genetics**, v. 15, n. 1, p. 7–21, 3 dez. 2013.
- FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International journal of cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-86, 1 mar. 2015.

FINK, A. J. et al. Development of the deep cerebellar nuclei: transcription factors and cell migration from the rhombic lip. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 26, n. 11, p. 3066–76, 15 mar. 2006.

FONG, Y. W. et al. The dyskerin ribonucleoprotein complex as an OCT4/SOX2 coactivator in embryonic stem cells. **eLife**, v. 3, 2014.

FOULADI, M. et al. Intellectual and functional outcome of children 3 years old or younger who have CNS malignancies. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 23, n. 28, p. 7152–60, 1 out. 2005.

GAJJAR, A. et al. Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term results from a prospective, multicentre trial. **The lancet oncology**, v. 7, n. 10, p. 813–20, out. 2006.

GALLUZZI, L. et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. **Oncogene**, v. 31, n. 15, p. 1869–83, 12 abr. 2012.

GALLUZZI, L. et al. Systems biology of cisplatin resistance: past, present and future. **Cell death & disease**, v. 5, p. e1257, jan. 2014.

GAO, Y. et al. The novel function of OCT4B isoform-265 in genotoxic stress. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 30, n. 4, p. 665–72, abr. 2012.

GIANGASPERO, F. et al. Stratification of medulloblastoma on the basis of histopathological grading. **Acta neuropathologica**, v. 112, n. 1, p. 5–12, jul. 2006.

GIBSON, P. et al. Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins. **Nature**, v. 468, n. 7327, p. 1095–9, 23 dez. 2010.

GILBERTSON, R. J.; ELLISON, D. W. The origins of medulloblastoma subtypes. **Annual review of pathology**, v. 3, p. 341–65, jan. 2008.

GOTTARDO, N. G. et al. Medulloblastoma Down Under 2013: a report from the third annual meeting of the International Medulloblastoma Working Group. **Acta neuropathologica**, v. 127, n. 2, p. 189–201, fev. 2014.

GROVER, J. et al. The human lumican gene. Organization, chromosomal location, and expression in articular cartilage. **The Journal of biological chemistry**, v. 270, n. 37, p. 21942–9, 15 set. 1995.

GUI, X. et al. Long Noncoding RNA CUDR Regulates HULC and β -Catenin to Govern Human Liver Stem Cell Malignant Differentiation. **Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 23, n. 12, p. 1843–53, dez. 2015.

GUO, Y. et al. Expression profile of embryonic stem cell-associated genes Oct4, Sox2 and Nanog in human gliomas. **Histopathology**, v. 59, n. 4, p. 763–75, out. 2011.

HAMILTON, S. R. et al. The Molecular Basis of Turcot's Syndrome. **New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 13, p. 839–847, 30 mar. 1995.

HAN, Y. et al. Downregulation of lncRNA-MALAT1 Affects Proliferation and the Expression of Stemness Markers in Glioma Stem Cell Line SHG139S. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 36, n. 7, p. 1097–107, out. 2016.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–74, 4 mar. 2011.

HAZELTINE, L. B.; SELEKMAN, J. A.; PALECEK, S. P. Engineering the human pluripotent stem cell microenvironment to direct cell fate. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 7, p. 1002–19, 15 nov. 2013.

HE, X. et al. Ribosomal protein L4 is a novel regulator of the MDM2-p53 loop. **Oncotarget**, v. 7, n. 13, p. 16217–16226, 2016.

HO, S.-M. et al. Exposure of Human Prostatespheres to Bisphenol A Epigenetically Regulates SNORD Family Noncoding RNAs via Histone Modification. **Endocrinology**, v. 156, n. 11, p. 3984–95, 6 nov. 2015.

HØFFDING, M. K.; HYTTEL, P. Ultrastructural visualization of the Mesenchymal-to-Epithelial Transition during reprogramming of human fibroblasts to induced pluripotent stem cells. **Stem Cell Research**, v. 14, n. 1, p. 39–53, jan. 2015.

HOLMBERG, J. et al. Activation of neural and pluripotent stem cell signatures correlates with increased malignancy in human glioma. **PloS one**, v. 6, n. 3, p. e18454, jan. 2011.

HOPPE-HIRSCH, E. et al. Intellectual outcome in children with malignant tumors of the posterior fossa: influence of the field of irradiation and quality of surgery. **Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery**, v. 11, n. 6, p. 340-5-6, jun. 1995.

HOVESTADT, V. et al. Decoding the regulatory landscape of medulloblastoma using DNA methylation sequencing. **Nature**, v. 510, n. 7506, p. 537–41, 26 jun. 2014.

HUANG, P. et al. Role of Sox2 and Oct4 in predicting survival of hepatocellular carcinoma patients after hepatectomy. **Clinical biochemistry**, v. 44, n. 8–9, p. 582–9, jun. 2011.

HUETHER, R. et al. The landscape of somatic mutations in epigenetic regulators across 1,000 paediatric cancer genomes. **Nature communications**, v. 5, p. 3630, jan. 2014.

HÜTTENHOFER, A.; SCHATTNER, P.; POLACEK, N. Non-coding RNAs: hope or hype? **Trends in genetics : TIG**, v. 21, n. 5, p. 289–97, maio 2005.

IKUSHIMA, H. et al. Glioma-initiating cells retain their tumorigenicity through integration of the Sox axis and Oct4 protein. **The Journal of biological chemistry**, v. 286, n. 48, p. 41434–41, 2 dez. 2011.

INCA. **Incidência de Câncer no Brasil - Estimativa 2016**. [s.l: s.n.].

IOZZO, R. V. The Family of the Small Leucine-Rich Proteoglycans: Key Regulators of Matrix Assembly and Cellular Growth. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, n. 2, p. 141–174, 26 jan. 1997.

JERABEK, S. et al. OCT4: dynamic DNA binding pioneers stem cell pluripotency. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1839, n. 3, p. 138–54, mar. 2014.

JIANG, X. et al. Increased level of H19 long noncoding RNA promotes invasion, angiogenesis, and stemness of glioblastoma cells. **Journal of Neurosurgery**, v. 124, n. 1, p. 129–136, jan. 2016.

- JOLLY, M. K. Implications of the Hybrid Epithelial/Mesenchymal Phenotype in Metastasis. **Frontiers in Oncology**, v. 5, 20 jul. 2015.
- JONES, D. T. W. et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. **Nature**, v. 488, n. 7409, p. 100–5, 2 ago. 2012.
- KANEKO, Y. et al. Functional interplay between MYCN, NCYM, and OCT4 promotes aggressiveness of human neuroblastomas. **Cancer science**, v. 106, n. 7, p. 840–7, jul. 2015.
- KAWAUCHI, D. et al. A mouse model of the most aggressive subgroup of human medulloblastoma. **Cancer cell**, v. 21, n. 2, p. 168–80, 14 fev. 2012.
- KIANG, K.; ZHANG, X.-Q.; LEUNG, G. Long Non-Coding RNAs: The Key Players in Glioma Pathogenesis. **Cancers**, v. 7, n. 3, p. 1406–1424, 29 jul. 2015.
- KILTIE, A. E.; LASHFORD, L. S.; GATTAMANENI, H. R. Survival and late effects in medulloblastoma patients treated with craniospinal irradiation under three years old. **Medical and pediatric oncology**, v. 28, n. 5, p. 348–54, maio 1997.
- KIM, J. B. et al. Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. **Nature**, v. 461, n. 7264, p. 649–3, 1 out. 2009.
- KIMURA, H. et al. Gli1 is important for medulloblastoma formation in Ptc1+/- mice. **Oncogene**, v. 24, n. 25, p. 4026–36, 9 jul. 2005.
- KONG, L. et al. **Regulation of p53 expression and apoptosis by vault RNA2-1-5p in cervical cancer cells** *Oncotarget* Impact Journals, , 22 jul. 2015.
- KOOL, M. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. **Acta neuropathologica**, v. 123, n. 4, p. 473–84, abr. 2012.
- KOOL, M. et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothed inhibition. **Cancer cell**, v. 25, n. 3, p. 393–405, 17 mar. 2014.
- KOSAKA, T. et al. Identification of drug candidate against prostate cancer from the aspect of somatic cell reprogramming. **Cancer science**, v. 104, n. 8, p. 1017–26, ago. 2013.
- KUMAR, S. M. et al. Acquired cancer stem cell phenotypes through Oct4-mediated dedifferentiation. **Oncogene**, v. 31, n. 47, p. 4898–911, 22 nov. 2012.
- LAMONT, J. M. et al. Combined histopathological and molecular cytogenetic stratification of medulloblastoma patients. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 10, n. 16, p. 5482–93, 15 ago. 2004.
- LANGHENDRIES, J.-L. et al. The human box C/D snoRNAs U3 and U8 are required for pre-rRNA processing and tumorigenesis. **Oncotarget**, v. 5, n. 0, 2016.
- LAPIDOT, T. et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. **Nature**, v. 367, n. 6464, p. 645–8, 17 fev. 1994.
- LATHIA, J. D. et al. Cancer stem cells in glioblastoma. **Genes & development**, v. 29, n. 12, p. 1203–17, 15 jun. 2015.

LEE, A. et al. Isolation of neural stem cells from the postnatal cerebellum. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 6, p. 723–9, jun. 2005.

LEE, H.-S. et al. **Epigenetic silencing of the non-coding RNA nc886 provokes oncogenes during human esophageal tumorigenesis** *Oncotarget Impact Journals*, , 28 abr. 2014a.

LEE, J. et al. The human OCT-4 isoforms differ in their ability to confer self-renewal. **The Journal of biological chemistry**, v. 281, n. 44, p. 33554–65, 3 nov. 2006.

LEE, K.-S. et al. **nc886, a non-coding RNA of anti-proliferative role, is suppressed by CpG DNA methylation in human gastric cancer** *Oncotarget Impact Journals*, , 1 jun. 2014b.

LEHTIÖ, L.; CHI, N.-W.; KRAUSS, S. Tankyrases as drug targets. **FEBS Journal**, v. 280, n. 15, p. 3576–3593, ago. 2013.

LENARDO, M. J. et al. Repression of the IgH enhancer in teratocarcinoma cells associated with a novel octamer factor. **Science (New York, N.Y.)**, v. 243, n. 4890, p. 544–6, 27 jan. 1989.

LETO, K. et al. Consensus Paper: Cerebellar Development. **Cerebellum (London, England)**, 6 out. 2015.

LI, L.; BHATIA, R. Stem cell quiescence. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 17, n. 15, p. 4936–41, 1 ago. 2011.

LI, S.-W. et al. The differential expression of OCT4 isoforms in cervical carcinoma. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0118033, jan. 2015a.

LI, T. et al. Amplification of Long Noncoding RNA ZFAS1 Promotes Metastasis in Hepatocellular Carcinoma. **Cancer research**, v. 75, n. 15, p. 3181–91, 1 ago. 2015b.

LI, V. C.; BALLABENI, A.; KIRSCHNER, M. W. Gap 1 phase length and mouse embryonic stem cell self-renewal. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 31, p. 12550–5, 31 jul. 2012.

LI, W. et al. Suppressing H19 Modulates Tumorigenicity and Stemness in U251 and U87MG Glioma Cells. **Cellular and molecular neurobiology**, 16 mar. 2016.

LI, Z. et al. Transcription factor OCT4 promotes cell cycle progression by regulating CCND1 expression in esophageal carcinoma. **Cancer letters**, v. 354, n. 1, p. 77–86, 1 nov. 2014.

LIN, T. et al. Tumor-initiating function of nucleostemin-enriched mammary tumor cells. **Cancer research**, v. 70, n. 22, p. 9444–52, 15 nov. 2010.

LIU, B. et al. Dyskerin overexpression in human hepatocellular carcinoma is associated with advanced clinical stage and poor patient prognosis. **PloS one**, v. 7, n. 8, p. e43147, 2012.

LIU, B. et al. Expression and mechanisms of long non-coding RNA genes MEG3 and ANRIL in gallbladder cancer. **Tumor Biology**, p. 1–12, 26 jan. 2016.

LIU, X. et al. Sequential introduction of reprogramming factors reveals a time-sensitive

requirement for individual factors and a sequential EMT–MET mechanism for optimal reprogramming. **Nature Cell Biology**, v. 15, n. 7, p. 829–838, 26 maio 2013.

LIZ, J.; ESTELLER, M. lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development. **Biochimica et biophysica acta**, 4 jul. 2015.

LOUIS, D. N. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. **Acta neuropathologica**, v. 114, n. 2, p. 97–109, ago. 2007.

LOUIS, D. N. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neuropathologica**, v. 131, n. 6, p. 803–820, 9 jun. 2016.

LU, H. et al. Silencing tankyrase and telomerase promotes A549 human lung adenocarcinoma cell apoptosis and inhibits proliferation. **Oncology reports**, v. 30, n. 4, p. 1745–52, out. 2013.

LUO, G. et al. Long Non-Coding RNA MEG3 Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis in Prostate Cancer. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 37, n. 6, p. 2209–2220, 27 nov. 2015.

MACDONALD, T. J. Hedgehog Pathway in Pediatric Cancers: They're Not Just for Brain Tumors Anymore. **American Society of Clinical Oncology educational book / ASCO. American Society of Clinical Oncology. Meeting**, p. 605–9, jan. 2012.

MAJUMDER, M. et al. COX-2 Induces Breast Cancer Stem Cells via EP4/PI3K/AKT/NOTCH/WNT Axis. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, 14 jun. 2016.

MALANCHI, I. et al. Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on beta-catenin signalling. **Nature**, v. 452, n. 7187, p. 650–3, 3 abr. 2008.

MANI, S. A. et al. The Epithelial-Mesenchymal Transition Generates Cells with Properties of Stem Cells. **Cell**, v. 133, n. 4, p. 704–715, maio 2008.

MANNOOR, K. et al. Small nucleolar RNA signatures of lung tumor-initiating cells. **Molecular cancer**, v. 13, p. 104, jan. 2014.

MANORANJAN, B. et al. Medulloblastoma stem cells: Modeling tumor heterogeneity. **Cancer Letters**, v. 338, n. 1, p. 23–31, 2013.

MARINO, S. Medulloblastoma: developmental mechanisms out of control. **Trends in molecular medicine**, v. 11, n. 1, p. 17–22, jan. 2005.

MARTENS-UZUNOVA, E. S. et al. C/D-box snoRNA-derived RNA production is associated with malignant transformation and metastatic progression in prostate cancer. **Oncotarget**, v. 6, n. 19, p. 17430–44, 10 jul. 2015.

MARTENS-UZUNOVA, E. S.; OLVEDY, M.; JENSTER, G. Beyond microRNA – Novel RNAs derived from small non-coding RNA and their implication in cancer. **Cancer Letters**, v. 340, n. 2, p. 201–211, 2013.

MASCARO CORDEIRO, B. et al. SHH, WNT, and NOTCH pathways in medulloblastoma: when cancer stem cells maintain self-renewal and differentiation properties. **Child's nervous system: ChNS: official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery**, v. 30, n. 7, p. 1165–72, jul. 2014.

MASSIMINO, M. et al. Histological variants of medulloblastoma are the most powerful clinical prognostic indicators. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 60, n. 2, p. 210–216, fev. 2013.

MAURER, A. J. et al. Tumor necrosis-initiated complement activation stimulates proliferation of medulloblastoma cells. **Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]**, v. 64, n. 3–4, p. 185–92, abr. 2015.

MAYSHAR, Y. et al. Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells. **Cell stem cell**, v. 7, n. 4, p. 521–31, 8 out. 2010.

MCCMAHON, M.; CONTRERAS, A.; RUGGERO, D. Small RNAs with big implications: new insights into H/ACA snoRNA function and their role in human disease. **Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA**, v. 6, n. 2, p. 173–189, mar. 2015.

MENG, L. et al. Nucleostemin deletion reveals an essential mechanism that maintains the genomic stability of stem and progenitor cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 28, p. 11415–20, 9 jul. 2013.

MEZZOMO, L. C. et al. Expression of cell growth negative regulators MEG3 and GADD45γ is lost in most sporadic human pituitary adenomas. **Pituitary**, v. 15, n. 3, p. 420–7, set. 2012.

MILLER, C. P. et al. Therapeutic strategies to enhance the anticancer efficacy of histone deacetylase inhibitors. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2011, p. 514261, jan. 2011.

MIRISOLA, V. et al. A prognostic multigene classifier for squamous cell carcinomas of the larynx. **Cancer letters**, v. 307, n. 1, p. 37–46, 1 ago. 2011.

MIRZAEI, M. R. et al. Altered expression of apoptotic genes in response to OCT4B1 suppression in human tumor cell lines. **Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine**, 11 jul. 2014.

MONAJEMZADEH, M. et al. Expression and prognostic significance of Oct4 and Nanog in neuroblastoma. **APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica**, v. 122, n. 9, p. 734–41, set. 2014.

MORATA-TARIFA, C. et al. Low adherent cancer cell subpopulations are enriched in tumorigenic and metastatic epithelial-to-mesenchymal transition-induced cancer stem-like cells. **Scientific reports**, v. 6, p. 18772, jan. 2016.

MORI, T. et al. Germ-line and somatic mutations of the APC gene in patients with Turcot syndrome and analysis of APC mutations in brain tumors. **Genes, chromosomes & cancer**, v. 9, n. 3, p. 168–72, mar. 1994.

MOYER, M. P.; AUST, J. B. Human colon cells: culture and in vitro transformation. **Science (New York, N.Y.)**, v. 224, n. 4656, p. 1445–7, 29 jun. 1984.

NAKANO, I. Stem cell signature in glioblastoma: therapeutic development for a moving target. **Journal of neurosurgery**, v. 122, n. 2, p. 324–30, 14 fev. 2015.

NG, S.-Y. et al. Long noncoding RNAs in development and disease of the central nervous system. **Trends in Genetics**, v. 29, n. 8, p. 461–468, 2013.

NICHOLS, J. et al. Formation of Pluripotent Stem Cells in the Mammalian Embryo Depends on the POU Transcription Factor Oct4. **Cell**, v. 95, n. 3, p. 379–391, 1998.

NIE, F. et al. Long noncoding RNA ZFAS1 promotes gastric cancer cells proliferation by epigenetically repressing KLF2 and NKD2 expression. **Oncotarget**, 26 maio 2016.

NIKITOVIC, D. et al. Lumican expression is positively correlated with the differentiation and negatively with the growth of human osteosarcoma cells. **FEBS Journal**, v. 275, n. 2, p. 350–361, jan. 2008.

NIWA, H.; MIYAZAKI, J.; SMITH, A. G. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. **Nature genetics**, v. 24, n. 4, p. 372–6, abr. 2000.

NOMURA, J. et al. Differential requirement for nucleostemin in embryonic stem cell and neural stem cell viability. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 27, n. 5, p. 1066–76, maio 2009.

NORI, S. et al. Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition. **Stem cell reports**, v. 4, n. 3, p. 360–73, 10 mar. 2015.

NORTHCOTT, P. A. et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 29, n. 11, p. 1408–14, 10 maio 2011.

NORTHCOTT, P. A. et al. The clinical implications of medulloblastoma subgroups. **Nature reviews. Neurology**, v. 8, n. 6, p. 340–51, jun. 2012a.

NORTHCOTT, P. A. et al. Medulloblastomics: the end of the beginning. **Nature reviews. Cancer**, v. 12, n. 12, p. 818–34, dez. 2012b.

NOWELL, P. The clonal evolution of tumor cell populations. **Science**, v. 194, n. 4260, p. 23–28, 1 out. 1976.

OKAMOTO, N. et al. Maintenance of tumor initiating cells of defined genetic composition by nucleostemin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 51, p. 20388–93, 20 dez. 2011.

ONG, C. W. et al. The prognostic value of the stem-like group in colorectal cancer using a panel of immunohistochemistry markers. **Oncotarget**, v. 6, n. 14, p. 12763–73, 20 maio 2015.

OSTROM, Q. T. et al. Alex's Lemonade Stand Foundation Infant and Childhood Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007-2011. **Neuro-oncology**, v. 16 Suppl 1, n. suppl_10, p. x1–x36, 1 jan. 2015a.

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. **Neuro-oncology**, v. 17 Suppl 4, p. iv1-iv62, out. 2015b.

PACKER, R. J. et al. Phase III study of craniospinal radiation therapy followed by adjuvant chemotherapy for newly diagnosed average-risk medulloblastoma. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 24, n. 25, p. 4202–8, 1 set. 2006.

PANOSYAN, E. H. et al. Clinical outcome in pediatric glial and embryonal brain tumors

correlates with in vitro multi-passageable neurosphere formation. **Pediatric blood & cancer**, v. 55, n. 4, p. 644–51, out. 2010.

PARDO, M. et al. An expanded Oct4 interaction network: implications for stem cell biology, development, and disease. **Cell stem cell**, v. 6, n. 4, p. 382–95, 2 abr. 2010.

PASI, C. E. et al. Genomic instability in induced stem cells. **Cell Death and Differentiation**, v. 18, n. 5, p. 745–753, 11 fev. 2011.

PEI, Y. et al. An animal model of MYC-driven medulloblastoma. **Cancer cell**, v. 21, n. 2, p. 155–67, 14 fev. 2012.

PESCE, M.; SCHÖLER, H. R. Oct-4: control of totipotency and germline determination. **Molecular reproduction and development**, v. 55, n. 4, p. 452–7, abr. 2000.

PICARD, D. et al. Markers of survival and metastatic potential in childhood CNS primitive neuro-ectodermal brain tumours: an integrative genomic analysis. **The lancet oncology**, v. 13, n. 8, p. 838–48, ago. 2012.

PIERCE, G. B.; WALLACE, C. Differentiation of malignant to benign cells. **Cancer research**, v. 31, n. 2, p. 127–34, fev. 1971.

POLYAK, K.; WEINBERG, R. A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. **Nature reviews. Cancer**, v. 9, n. 4, p. 265–73, abr. 2009.

PUGH, T. J. et al. Medulloblastoma exome sequencing uncovers subtype-specific somatic mutations. **Nature**, v. 488, n. 7409, p. 106–10, 2 ago. 2012.

QU, J.; BISHOP, J. M. Nucleostemin maintains self-renewal of embryonic stem cells and promotes reprogramming of somatic cells to pluripotency. **The Journal of cell biology**, v. 197, n. 6, p. 731–45, 11 jun. 2012.

RAMASWAMY, V. et al. Risk stratification of childhood medulloblastoma in the molecular era: the current consensus. **Acta neuropathologica**, 4 abr. 2016a.

RAMASWAMY, V. et al. Risk stratification of childhood medulloblastoma in the molecular era: the current consensus. **Acta neuropathologica**, v. 131, n. 6, p. 821–31, jun. 2016b.

RAMOS, A. D.; ATTENELLO, F. J.; LIM, D. A. Uncovering the roles of long noncoding RNAs in neural development and glioma progression. **Neuroscience Letters**, v. 625, p. 70–79, 2016.

REYA, T. et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**, v. 414, n. 6859, p. 105–11, 1 nov. 2001.

RIJLAARSDAM, M. A. et al. Specific detection of OCT3/4 isoform A/B/B1 expression in solid (germ cell) tumours and cell lines: confirmation of OCT3/4 specificity for germ cell tumours. **British journal of cancer**, v. 105, n. 6, p. 854–63, 6 set. 2011.

RIZZINO, A. Concise review: The Sox2-Oct4 connection: critical players in a much larger interdependent network integrated at multiple levels. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 31, n. 6, p. 1033–9, jun. 2013.

RODINI, C. O. et al. Aberrant signaling pathways in medulloblastomas: a stem cell connection. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 68, n. 6, p. 947–52, dez. 2010.

- RODINI, C. O. et al. Expression analysis of stem cell-related genes reveal OCT4 as a predictor of poor clinical outcome in medulloblastoma. **Journal of neuro-oncology**, v. 106, n. 1, p. 71–9, jan. 2012.
- ROMANOVA, L. et al. Novel role of nucleostemin in the maintenance of nucleolar architecture and integrity of small nucleolar ribonucleoproteins and the telomerase complex. **The Journal of biological chemistry**, v. 284, n. 39, p. 26685–94, 25 set. 2009.
- ROMER, J. T. et al. Suppression of the Shh pathway using a small molecule inhibitor eliminates medulloblastoma in Ptc1(+/-)p53(-/-) mice. **Cancer cell**, v. 6, n. 3, p. 229–40, set. 2004.
- RONEN, D.; BENVENISTY, N. Genomic stability in reprogramming. **Current opinion in genetics & development**, v. 22, n. 5, p. 444–9, out. 2012.
- ROUSSEL, M. F.; HATTEN, M. E. Cerebellum development and medulloblastoma. **Current topics in developmental biology**, v. 94, p. 235–82, jan. 2011.
- RUTKA, J. T.; HOFFMAN, H. J. Medulloblastoma: A historical perspective and overview. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 29, p. 1–7, 1996.
- SASAI, K. et al. Medulloblastomas derived from Cxcr6 mutant mice respond to treatment with a smoothed inhibitor. **Cancer research**, v. 67, n. 8, p. 3871–7, 15 abr. 2007.
- SBARRATO, T. et al. A ribosome-related signature in peripheral blood CLL B cells is linked to reduced survival following treatment. **Cell death & disease**, v. 7, n. 6, p. e2249, 2016.
- SCAFFIDI, P.; MISTELI, T. In vitro generation of human cells with cancer stem cell properties. **Nature Cell Biology**, v. 13, n. 9, p. 1051–1061, 21 ago. 2011.
- SCHMITT, A. M. et al. Long Noncoding RNAs in Cancer Pathways. **Cancer Cell**, v. 29, n. 4, p. 452–463, abr. 2016.
- SCHÜLLER, U. et al. Acquisition of granule neuron precursor identity is a critical determinant of progenitor cell competence to form Shh-induced medulloblastoma. **Cancer cell**, v. 14, n. 2, p. 123–34, 12 ago. 2008.
- SEYMOUR, T.; TWIGGER, A.-J.; KAKULAS, F. Pluripotency Genes and Their Functions in the Normal and Aberrant Breast and Brain. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 11, p. 27288–301, jan. 2015.
- SHAYKHIEV, R. et al. Airway basal cells of healthy smokers express an embryonic stem cell signature relevant to lung cancer. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 31, n. 9, p. 1992–2002, set. 2013.
- SHI, G.; JIN, Y. Role of Oct4 in maintaining and regaining stem cell pluripotency. **Stem cell research & therapy**, v. 1, n. 5, p. 39, 2010.
- SHI, J. et al. OCT4 is epigenetically regulated by DNA hypomethylation of promoter and exon in primary gliomas. **Oncology reports**, v. 30, n. 1, p. 201–6, jul. 2013.
- SHI, X. et al. An epigenetic switch induced by Shh signalling regulates gene activation during development and medulloblastoma growth. **Nature communications**, v. 5, p. 5425, jan. 2014.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2015. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 65, n. 1, p. 5–29, jan. 2015.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2016. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 66, n. 1, p. 7–30, 2016.

SINGH, S. K. et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. **Cancer research**, v. 63, n. 18, p. 5821–8, 15 set. 2003.

SINGH, S. K. et al. Identification of human brain tumour initiating cells. **Nature**, v. 432, n. 7015, p. 396–401, 18 nov. 2004.

SIPRASHVILI, Z. et al. The noncoding RNAs SNORD50A and SNORD50B bind K-Ras and are recurrently deleted in human cancer. **Nature genetics**, v. 48, n. 1, p. 53–8, jan. 2016.

SLOMNICKI, L. P. et al. Nucleolar Enrichment of Brain Proteins with Critical Roles in Human Neurodevelopment. **Molecular & cellular proteomics : MCP**, v. 15, n. 6, p. 2055–75, jun. 2016.

SMITH, B. A. et al. A basal stem cell signature identifies aggressive prostate cancer phenotypes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 47, p. E6544-52, 24 nov. 2015.

SONG, T. et al. Expression of 67-kDa laminin receptor was associated with tumor progression and poor prognosis in epithelial ovarian cancer. **Gynecologic oncology**, v. 125, n. 2, p. 427–32, maio 2012.

STEARNS, D. et al. c-myc overexpression causes anaplasia in medulloblastoma. **Cancer research**, v. 66, n. 2, p. 673–81, 15 jan. 2006.

STUDEBAKER, A. W. et al. Oncolytic measles virus prolongs survival in a murine model of cerebral spinal fluid-disseminated medulloblastoma. **Neuro-oncology**, v. 14, n. 4, p. 459–70, abr. 2012.

SUN, L.; LI, Y.; YANG, B. **Downregulated long non-coding RNA MEG3 in breast cancer regulates proliferation, migration and invasion by depending on p53's transcriptional activity** *Biochemical and Biophysical Research Communications*. [s.l: s.n.].

TAAPKEN, S. M. et al. Karyotypic abnormalities in human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells. **Nature biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 313–4, abr. 2011.

TAKAHASHI, K. et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. **Cell**, v. 131, n. 5, p. 861–72, 30 nov. 2007.

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. **Cell**, v. 126, n. 4, p. 663–76, 25 ago. 2006.

TAKEDA, J.; SEINO, S.; BELL, G. I. Human Oct3 gene family: cDNA sequences, alternative splicing, gene organization, chromosomal location, and expression at low levels in adult tissues. **Nucleic acids research**, v. 20, n. 17, p. 4613–20, 11 set. 1992.

TAMASE, A. et al. Identification of tumor-initiating cells in a highly aggressive brain tumor using promoter activity of nucleostemin. **Proceedings of the National Academy of**

Sciences of the United States of America, v. 106, n. 40, p. 17163–8, 6 out. 2009.

TANG, Y.-A. et al. Global Oct4 target gene analysis reveals novel downstream PTEN and TNC genes required for drug-resistance and metastasis in lung cancer. **Nucleic acids research**, v. 43, n. 3, p. 1593–608, 18 fev. 2015.

TAYLOR, M. D. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. **Acta neuropathologica**, v. 123, n. 4, p. 465–72, abr. 2012.

TAYLOR, M. D.; MAINPRIZE, T. G.; RUTKA, J. T. Molecular insight into medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor biology from hereditary syndromes: a review. **Neurosurgery**, v. 47, n. 4, p. 888–901, out. 2000.

TAYLOR, R. E. et al. Outcome for patients with metastatic (M2-3) medulloblastoma treated with SIOP/UKCCSG PNET-3 chemotherapy. **European journal of cancer (Oxford, England : 1990)**, v. 41, n. 5, p. 727–34, mar. 2005.

THIERY, J. P. et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. **Cell**, v. 139, n. 5, p. 871–90, 25 nov. 2009.

THOMPSON, E. M. et al. Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective integrated clinical and molecular analysis. **The Lancet Oncology**, v. 17, n. 4, p. 484–495, 2016.

THORENOOR, N. et al. Long non-coding RNA ZFAS1 interacts with CDK1 and is involved in p53-dependent cell cycle control and apoptosis in colorectal cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 1, p. 622–37, 5 jan. 2016.

TOMAYKO, M. M.; REYNOLDS, C. P. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 24, n. 3, p. 148–54, 1989.

TSAI, L.-L. et al. Oct4 Mediates Tumor Initiating Properties in Oral Squamous Cell Carcinomas through the Regulation of Epithelial-Mesenchymal Transition. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e87207, 27 jan. 2014a.

TSAI, S. C. et al. Induced overexpression of OCT4A in human embryonic stem cells increases cloning efficiency. **American journal of physiology. Cell physiology**, v. 306, n. 12, p. C1108-18, 15 jun. 2014b.

VALDORA, F. et al. Epigenetic Silencing of DKK3 in Medulloblastoma. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4, p. 7492–505, jan. 2013.

VANNER, R. J. et al. Quiescent Sox2(+) Cells Drive Hierarchical Growth and Relapse in Sonic Hedgehog Subgroup Medulloblastoma. **Cancer cell**, v. 26, n. 1, p. 33–47, 17 jun. 2014.

VERMA, S.; TAVARÉ, C. J.; GILLES, F. H. Histologic features and prognosis in pediatric medulloblastoma. **Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society**, v. 11, n. 5, p. 337–43, 17 jan. 2008.

VERMEULEN, L. et al. Cancer stem cells--old concepts, new insights. **Cell death and differentiation**, v. 15, n. 6, p. 947–58, jun. 2008.

VERMEULEN, L. et al. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by

- the microenvironment. **Nature cell biology**, v. 12, n. 5, p. 468–76, maio 2010.
- VERMEULEN, L. et al. The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities. **The lancet oncology**, v. 13, n. 2, p. e83-9, fev. 2012.
- VESCOVI, A. L.; GALLI, R.; REYNOLDS, B. A. Brain tumour stem cells. **Nature reviews. Cancer**, v. 6, n. 6, p. 425–36, jun. 2006.
- VISVADER, J. E.; LINDEMAN, G. J. Cancer stem cells: current status and evolving complexities. **Cell stem cell**, v. 10, n. 6, p. 717–28, 14 jun. 2012.
- WANG, P.; REN, Z.; SUN, P. Overexpression of the long non-coding RNA MEG3 impairs in vitro glioma cell proliferation. **Journal of cellular biochemistry**, v. 113, n. 6, p. 1868–74, jun. 2012.
- WANG, V. Y.; ROSE, M. F.; ZOGHBI, H. Y. Math1 expression redefines the rhombic lip derivatives and reveals novel lineages within the brainstem and cerebellum. **Neuron**, v. 48, n. 1, p. 31–43, 6 out. 2005.
- WANG, W.; XING, C. Upregulation of long noncoding RNA ZFAS1 predicts poor prognosis and prompts invasion and metastasis in colorectal cancer. **Pathology - Research and Practice**, v. 212, n. 8, p. 690–695, 2016.
- WANG, X. et al. Alternative translation of OCT4 by an internal ribosome entry site and its novel function in stress response. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 27, n. 6, p. 1265–75, jun. 2009.
- WANG, X.; DAI, J. Concise review: isoforms of OCT4 contribute to the confusing diversity in stem cell biology. **Stem cells (Dayton, Ohio)**, v. 28, n. 5, p. 885–93, maio 2010.
- WARD, E. et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 2, p. 83–103, 2014.
- WEISWALD, L.-B.; BELLET, D.; DANGLES-MARIE, V. Spherical Cancer Models in Tumor Biology. **Neoplasia (New York, N.Y.)**, v. 17, n. 1, p. 1–15, jan. 2015.
- WEZEL, F. et al. Differential expression of Oct4 variants and pseudogenes in normal urothelium and urothelial cancer. **The American journal of pathology**, v. 183, n. 4, p. 1128–36, out. 2013.
- WHITE, J.; DALTON, S. Cell cycle control of embryonic stem cells. **Stem cell reviews**, v. 1, n. 2, p. 131–8, jan. 2005.
- WHO. **Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks.** Disponível em: <http://www.who.int/biologicals/Cell_Substrates_clean_version_18_April.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2014.
- WHO. **World Health Organization - Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles , 2014.** Disponível em: <http://www.who.int/nmh/countries/bra_en.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2016.
- WHO; IARC. **GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.** Disponível em: <<http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>>.

WONG, D. J. et al. Module map of stem cell genes guides creation of epithelial cancer stem cells. **Cell stem cell**, v. 2, n. 4, p. 333–44, 10 abr. 2008.

WU, G. et al. Oct4 is a reliable marker of liver tumor propagating cells in hepatocellular carcinoma. **Discovery medicine**, v. 20, n. 110, p. 219–29, out. 2015a.

WU, H. et al. Nucleostemin regulates proliferation and migration of gastric cancer and correlates with its malignancy. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 10, p. 17634–43, jan. 2015b.

WU, X. et al. Clonal selection drives genetic divergence of metastatic medulloblastoma. **Nature**, v. 482, n. 7386, p. 529–33, 23 fev. 2012.

XU, G. et al. Small nucleolar RNA 113–1 suppresses tumorigenesis in hepatocellular carcinoma. **Molecular Cancer**, v. 13, n. 1, p. 216, 2014.

XU, J. et al. Deaths: Final Data for 2013. **National vital statistics reports : from the Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, National Vital Statistics System**, v. 64, n. 2, p. 1–119, 16 fev. 2016.

XU, M. et al. Sonic hedgehog-glioma associated oncogene homolog 1 signaling enhances drug resistance in CD44(+)/Musashi-1(+) gastric cancer stem cells. **Cancer letters**, v. 369, n. 1, p. 124–33, 1 dez. 2015.

YAMADA, K. M.; CUKIERMAN, E. Modeling tissue morphogenesis and cancer in 3D. **Cell**, v. 130, n. 4, p. 601–10, 24 ago. 2007.

YANG, N. et al. Inhibition of Sonic Hedgehog Signaling Pathway by Thiazole Antibiotic Thiostrepton Attenuates the CD44+/CD24-Stem-Like Population and Sphere-Forming Capacity in Triple-Negative Breast Cancer. **Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology**, v. 38, n. 3, p. 1157–70, 2016.

YANG, S. et al. Oct4 and Sox2 are overexpressed in human neuroblastoma and inhibited by chemotherapy. **Oncology reports**, v. 28, n. 1, p. 186–92, jul. 2012.

YANG, Z.-J. et al. Medulloblastoma can be initiated by deletion of Patched in lineage-restricted progenitors or stem cells. **Cancer cell**, v. 14, n. 2, p. 135–45, 12 ago. 2008.

YAO, L. et al. Dickkopf-1-promoted vasculogenic mimicry in non-small cell lung cancer is associated with EMT and development of a cancer stem-like cell phenotype. **Journal of cellular and molecular medicine**, 31 maio 2016.

YOSHIDA, R. et al. Nucleostemin affects the proliferation but not differentiation of oral squamous cell carcinoma cells. **Cancer science**, v. 102, n. 7, p. 1418–23, jul. 2011.

YU, J. et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. **Science (New York, N.Y.)**, v. 318, n. 5858, p. 1917–20, 21 dez. 2007.

ZELTZER, P. M. et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study. **Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 17, n. 3, p. 832–45, mar. 1999.

ZHANG, W. et al. Mapping of the minimal internal ribosome entry site element in the

human embryonic stem cell gene OCT4B mRNA. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 394, n. 3, p. 750–4, 9 abr. 2010.

ZHANG, Y. et al. Elevated DDX21 regulates c-Jun activity and rRNA processing in human breast cancers. **Breast cancer research : BCR**, v. 16, n. 5, p. 449, 2014.

ZHAO, R. et al. A nontranscriptional role for Oct4 in the regulation of mitotic entry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 44, p. 15768–73, 4 nov. 2014.