26º Congresso de Biólogos do CRBio-01
"Mudanças climáticas e saúde única"
4 a 6 de dezembro de 2023
Faculdade das Américas, São Paulo - SP

Avaliação da expressão e interação entre microRNA e RNA mensageiro no câncer de cabeça e pescoço

Lucca D'Arco Corrêa 1,2, Bárbara dos Santos Dias 1, Leticia Torres Ferreira 1, Larissa Figueiredo Alves Diniz 1, Denise da Cunha Pasqualin 1, Rafael Pereira de Souza 3, Rafael de Cicco 3, Patricia Severino 1
1 Hospital Israelita Albert Einstein, 2 Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho, 3 Instituto do Câncer Doutor Arnaldo Vieira de Carvalho

INTRODUÇÃO

De acordo com as estimativas feitas para 2020, o câncer de cabeça e pescoço é classificado como o sétimo tipo de câncer mais comum no mundo, além de ter uma baixa taxa de sobrevida (50%). Por conta disso, estratégias para detecção precoce, acompanhamento e tratamento são frequentemente pesquisadas. Possíveis alvos que podem ser utilizados para alcançar tais propostas são os MiRNAs nos tecidos tumorais.Os miRNAs são uma classe de pequenos RNAs não codificantes, com aproximadamente 20-25 nucleotídeos. MiRNAs são estudados como potenciais biomarcadores por apresentarem expressão desregulada em tecidos tumorais.

OBJETIVOS

Avaliar miRNA e mRNA em tecido tumoral visando sugerir mecanismos de regulação gênica relevantes no desenvolvimento do tumor e investigar miRNAs como marcadores da presença do tumor.

METODOLOGIA

Os pacientes incluídos apresentaram diagnóstico confirmado para CECP, pela equipe de oncologia do ICAVC. Selecionamos apenas pacientes que apresentarem lesões nas regiões classificadas como orofaringe e laringe como sítios de lesão primária. Os controles foram selecionados a partir de voluntários livres de câncer. RNA total, incluindo miRNAs, foi extraído de tecidos tumorais e livres de tumor conservados em parafina com o ensaio Allprep DNA/RNA FFPE (Qiagen). A tecnologia de hibridização de código de barras molecular (nCounter Nanostring) foi utilizada para a detecção de miRNA e mRNA com o painel nCounter Human V3 miRNA e PanCancer Pathways, respectivamente. O processamento dos dados e análises estatísticas foram realizados com o software nSolver 4.0 (Nanostring). Para a predição da interação entre miRNAs e seus possíveis mRNAs alvos foram utilizadas as ferramentas miRWALK 3.0, MirTarBase, TargetScan e miRDB e dados disponíveis na literatura.

RESULTADOS

Através da análise da expressão gênica e predição da interação de miRNA-mRNA foram identificados miRNAs e seus respectivos mRNAs-alvo diferencialmente expressos. Dentre os genes com expressão alterada relevantes para o desenvolvimento e progressão do câncer destacam-se genes envolvidos na regulação do ciclo celular (PIK3R1 e CDKN1C), e genes especificamente descritos na literatura como associados ao desenvolvimento tumoral e proliferação em CECP (MCM2, CDC6, CDNA2 e PKMYT1) com expressão elevada, e miRNAs preditos como reguladores destes genes menos expressos no tecido tumoral. Exemplos desse miRNAs são o hsa-mir-612, hsa-mir-150-5p, hsa-mir-145-5p, hsa-mir-99a-5p, hsa-mir-302d,3p os quais atuam nos genes CCNA2, PKMYT1, E2F1, TGA3, LAMG2, WNT4 e WNT7B.

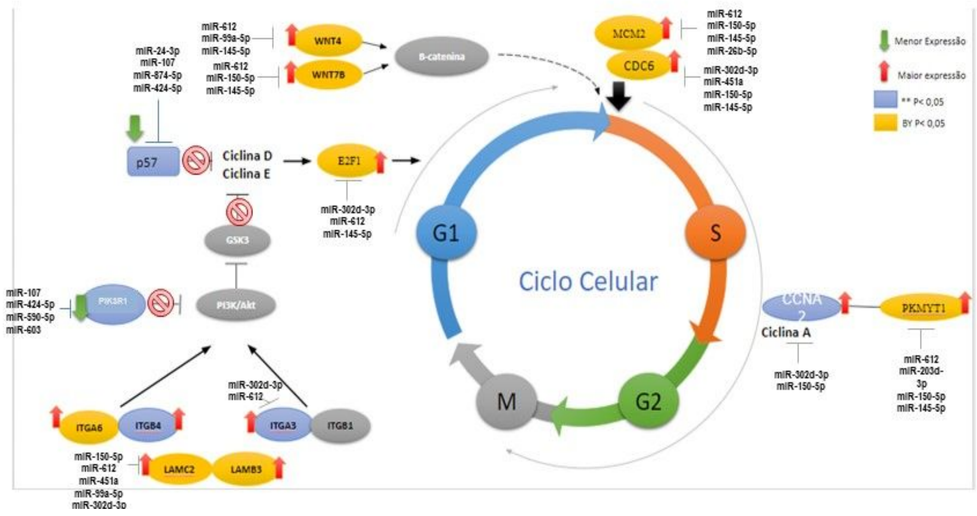

Figura 1: Interações miRNAS/mRNAS no ciclo celular

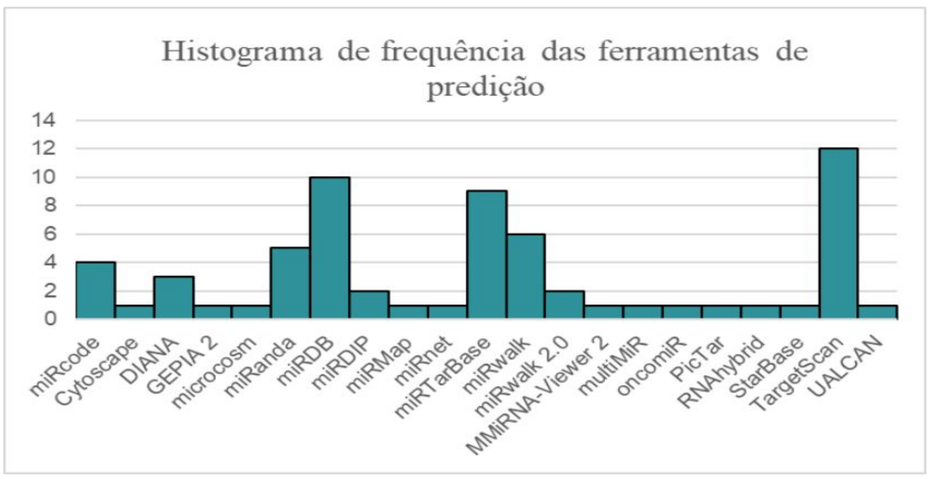

Figura 2: Histograma de frequência das ferramentas de predição

DISCUSSÃO

O miR-150-5p tem sido apontado como um miRNA supressor de tumor no carcinoma de cabeça e pescoço, sua expressão é diminuída em células e tecido de carcinoma de nasofaringe, tem correlação inversa com genes relacionados a tumorigênese e correlação com menor taxa de sobrevida global (Koshizuka, 2017; Li,2021). Do mesmo modo, o miR-612 parece desempenhar um papel importante de supressão tumoral. A expressão de miR-612 é menor no tecido tumoral de pacientes com carcinoma de cabeça e pescoço quando comparado ao tecido adjacente. Além disso, análises in vitro mostram que o miR-612 induz a proliferação, migração e invasão celular através da regulação direta de AKT2 (Xie et al., 2019). Os dados mostram uma diminuição na expressão de miR-612 no tecido tumoral em comparação com o tecido adjacente, em conjunto, seus genes alvos CDK4, E2F1, ITGA6, LAMB3, LAMC2, MCM2, PKMYT1, SKP2, WNT4, WNT7B, ITGA3 e ITGB4 foram encontrados com expressão elevada em tecido tumoral. O miR-150-5p também apresentou regulação negativa no tecido tumoral, acompanhado da maior expressão de seus alvos CCNA2, CDC6, ITGA6, LAMB3, LAMC2, MCM2, PKMYT1 e WNT7B. Em nossos resultados, o miR-34a-5p estava menos expresso antes do tratamento e em tecido tumoral. Este miRNA foi detectado com menor expressão em plasma de pacientes de CECP quando comparados com controles, é considerado um supressor tumoral por ter como alvos AXL e MET, descritos com alta expressão em diversos tipos tumorais e relacionado com transição mesenquimal e proliferação celular, respectivamente (Li et al, 2018; Wu et al., 2021).

CONCLUSÃO

As interações entre miRNAs e mRNAs avaliadas neste estudo corroboram com achados da literatura e contribuem para o conhecimento acerca de mecanismos relacionados com a progressão deste tipo tumoral.

REFERÊNCIAS

- KOSHIZUKA, K.; NOHATA, N.; HANAZAWA, T.; KIKKAWA, N.; ARAI, T.; OKATO, A.; FUKUMOTO, I.; KATADA, K.; OKAMOTO, Y.; SEKI, N.. Deep sequencing-based microrna expression signatures in head and neck squamous cell carcinoma: dual strands of pre-mir-150 as antitumor mirnas. Oncotarget, v. 8, n. 18, p. 30288–30304, Maio 2017.
- LI, X.; ZHAO, S.; FU, Y.; ZHANG, P.; ZHANG, Z.; CHENG, J.; LIU, L.; JIANG, H.. Mir-34a-5p functions as a tumor suppressor in head and neck squamous cell cancer progression by targeting flotillin-2. International Journal of Biological Sciences, v. 17, n. 15, p.4327–4339, Out 2021.
- LI, Y.-Y.; TAO, Y.-W.; GAO, S.; LI, P.; ZHENG, J.-M.; ZHANG, S.-E.; LIANG, J.; ZHANG, Y.. Cancer-associated fibroblasts contribute to oral cancer cells proliferation and metastasis via exosome-mediated paracrine mir-34a-5p. eBioMedicine, v. 36, p. 209–220, Out 2018.
- WU, X.; CHENG, Y.-S. L.; MATTHEN, M.; YOON, A.; SCHWARTZ, G. K.; BALA, S.; TAYLOR, A. M.; MOMEN-HERAVI, F.. Down-regulation of the tumor suppressor mir-34a contributes to head and neck cancer by up-regulating the MET oncogene and modulating tumor immune evasion. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, v. 40, n. 1, Fev 2021.
- XIE, X.; XIONG, G.; WANG, Q.; GE, Y.; CUI, X. Long non-coding RNA LINC00460 promotes head and neck squamous cell carcinoma cell progression by sponging miR-612 to up-regulate AKT2. Am J Transl Res, v. 11, n. 10, p. 6326-6340, Out 2019.

AGRADECIMENTOS

- Apoio pelo Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica (PRONON);
- Bolsa de estudos CAPES.
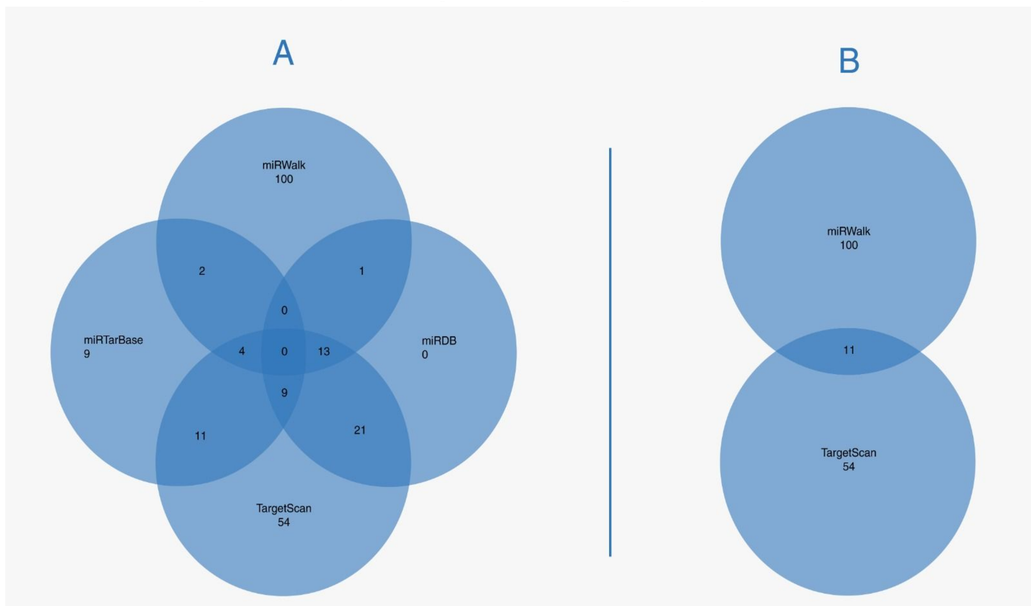
Figura 3: Diagrama de Venn acerca das interações entre ferramentas (A: interação entre as 4; B: interação miRwalk e TargetScan)