

Relação da metástase linfonodal com alterações epigenéticas no câncer de pênis: o papel dos miRNAs

W. C. Silva¹, T. V. P. Rodrigues¹, J. D. Pinho³, A. A. L. T². Júnior, A. M. Sousa¹, J. R. R. Calixto⁴, G. B. Silva⁴, R.R. Burbano¹, A. S. Khayat¹, C. R. T. Souza¹.

1. Universidade Federal do Pará – UFPA, 2. Universidade de São Paulo – USP, 3. Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, 4. Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Introdução

O carcinoma de pênis (CP) é tido como uma das mais perigosas neoplasias que acometem o homem, principalmente por ser física e psicologicamente mutilante. Na América do sul, o Brasil se destaca como um dos países com as maiores taxas de incidência desse câncer. No entanto, o conhecimento sobre a etiologia e o perfil molecular do CP é bastante limitado. No câncer, de modo geral, sabe-se que antes de qualquer alteração celular, ocorrem alterações moleculares e, destacamos aqui, modificações em mecanismos epigenéticos, como os microRNAs. Os microRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs não codificantes de tamanho de 18-25 nucleotídeos, que influenciam na expressão genica. O papel dos miRNAs tem recebido destaque e é amplamente investigado na tumorigênese. Alguns autores sugerem o uso de tais moléculas como biomarcadores de diagnóstico, prognóstico e tratamento.

A demonstração de perturbações dependentes de infecções por HPV sobre genes alvo e sobre a expressão de miRNA do hospedeiro aumentam a complexidade da transformação induzida por este vírus.

Dessa forma, considerando a alta prevalência de HPV em câncer peniano como demonstrado pela literatura, é de grande valia a avaliação da expressão dos miRNAs e a correlação desses com as características clinicopatológicas, na intenção de identificar possíveis biomarcadores.

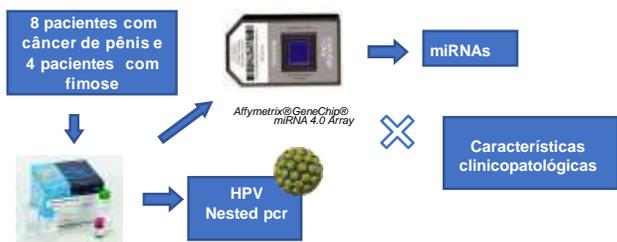
Casuística e Métodos

Foi realizada a avaliação da expressão de miRNAs em 08 amostras de pacientes com diagnóstico anatomo-patológico de câncer de pênis e em 04 amostras de pacientes controle (fimose) através da análise por microarranjos (GeneChip Array). Inicialmente extraiu-se o material genético (DNA e RNA) com feno-cloroformio e com o kit hugh pure miRNA isolation, respectivamente. Para o microarray, seguiu-se todo o protocolo do fabricante. Os dados brutos foram normalizados e analisados usando o software Transcriptome Analysis Console (TAC) 4.0. Foram considerados miRNAs diferencialmente expressos com *fold change* $\geq 2,0$ e $\leq -2,0$ e $P < 0,05$. A taxa de falsas descobertas (FDR) foi minimizada pela aplicação de valores P ajustados (FDR P-value).

Com auxílio de ferramentas de bioinformática (Diana - miRPath v.3), foi feita a identificação dos alvos dos microRNAs diferencialmente expressos, bem como as prováveis vias que estão envolvidas.

A identificação do HPV foi performada por nested-PCR (Gravitt *et al*, 2000 e Jacobs *et al*, 1997) e o subtipo do HPV identificada por sequenciamento.

O padrão de expressão dos miRNAs e infecção por HPV, foi relacionado as características clinicopatológicas, como metástase linfonodal (ML).



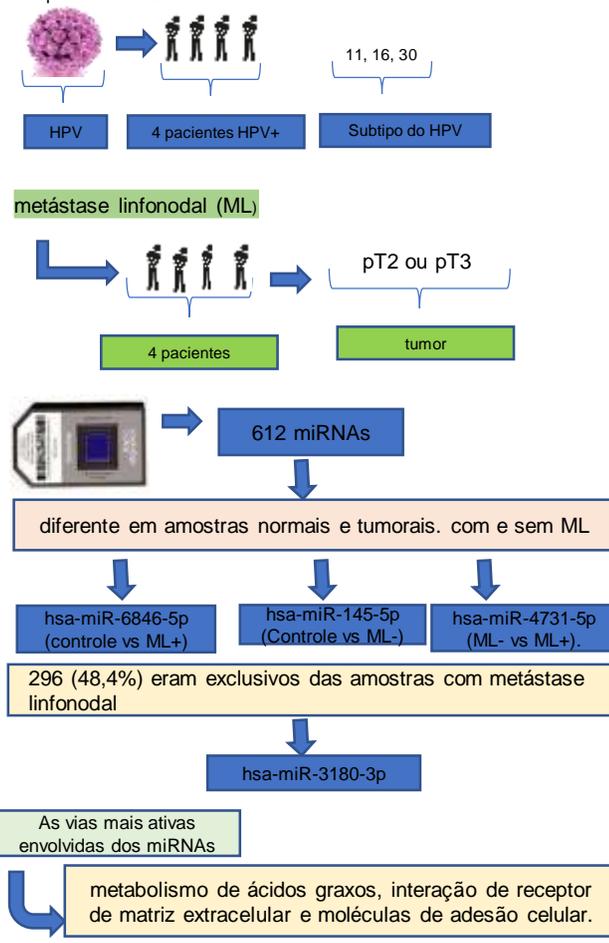
Resultados

A metástase linfonodal (ML) estava presente em 4 pacientes, sendo todos de níveis pT2 ou pT3. Cerca de 600 miRNAs apresentaram comportamento diferente em amostras com e sem ML. Desses, 296 (48,4%) eram exclusivos das amostras com metástase linfonodal, como o hsa-miR-3180-3p. Os miRNAs com maiores diferenças foram o hsa-miR-455-3p e hsa-miR-6819-5p, com *fold-change* de -24,63 e 12,46, respectivamente.

O vírus estava presente em 4 tumores, sendo, 2 do subtipo 16, um do subtipo 11 e outro do subtipo 30.

Dentre eles, comparando-se os grupos de acordo com a presença de câncer ou metástase linfonodal, temos os miRNAs altamente expressos: hsa-miR-6846-5p (controle vs ML+), hsa-miR-145-5p (Controle vs ML-) e hsa-miR-4731-5p (ML- vs ML+).

As vias mais ativas envolvidas com os miRNAs identificados foram as relacionadas a metabolismo de ácidos graxos, interação de receptor de matriz extracelular e moléculas de adesão celular.



Conclusões

Desta forma, conclui-se que no presente trabalho, os miRNAs podem desempenhar papéis significativos no câncer de pênis especialmente relacionados a metástase linfonodal, sendo potenciais biomarcadores de prognóstico. Porém, a confirmação dessa informação se faz necessária em um número amostral maior.

Palavras-chave: miRNAs, câncer de pênis (CP), perfil de expressão, metástase linfonodal

Contato

E-mail:
Laboratório de Citogenética Humana, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

wanderley.silva@icb.ufpa.br