

# Análise Transcriptômica do Carcinoma Ductal Mamário Canino: Um Modelo de Estudo Comparativo

Ferrasi AC<sup>1</sup>, Santos DB<sup>1</sup>, Fernandez GJ<sup>2</sup>, Pardini LMC<sup>3</sup>, Galvani AFG<sup>1</sup>, Kurokawa GA<sup>1</sup>, Lima EO<sup>1</sup>, Pardini MIMC<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina (FMB), Botucatu-SP, Brasil.

<sup>2</sup> Universidad de Antioquia (UdeA), Facultad de Ciencias exactas y Naturales, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Hospital Veterinário de São Bento, Lisboa, Portugal.

## Introdução

Os carcinomas mamários canino e humano compartilham várias características biológicas, como histologia, comportamento clínico e vias moleculares. As análises genômicas em tumores caninos mostraram semelhanças entre as duas espécies. Portanto, cães de companhia podem ser ótimos modelos para estudos oncogenéticos comparativos. As análises do transcriptoma global devem contribuir para a identificação de biomarcadores com uso potencial no diagnóstico, prognóstico e alvos terapêuticos no câncer, beneficiando seres humanos e animais.

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi, com base no sequenciamento de nova geração (NGS), determinar o perfil transcricional do carcinoma ductal mamário canino e contribuir para o esclarecimento da importância das moléculas desreguladas nas vias envolvidas na doença.

## Casuística e Métodos

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética local para o Uso de Animais (CEUA) (Protocolo 49/201). Os espécimes foram obtidos de cães fêmeas (n=6) com carcinoma mamário ductal primário de ocorrência natural. Todas as amostras (tumor e tecido normal adjacente) foram coletadas em cirurgias que fizeram parte de protocolos de terapia padrão no Serviço de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária (Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil). O RNA total de cada amostra foi extraído, quantificado e submetido a análise de qualidade. Posteriormente, este material foi agrupado em quatro grupos (dois tumorais [T1, T2] e dois normais [C1, C2]). Cada grupo foi utilizado para construir uma biblioteca que foi então sequenciada na plataforma NextSeq 500 System (Illumina, EUA). As sequências foram submetidas à análise de qualidade, limpeza e alinhamento (TopHat2) com o genoma de referência e identificação dos transcritos diferencialmente expressos (DESeq2). O enriquecimento funcional foi realizado com o Gene Ontology (GO) na plataforma Enrichr.

## Resultados

Comparando o carcinoma ductal mamário com o tecido normal, foram encontrados 633 genes down-regulados e 573 up-regulados (Figura 1), que foram capazes de diferenciar os grupos no gráfico PCA (Figura 1A).

Destacando os 10 genes up- e os 10 down-regulados, a maioria dos up-estão relacionados à organização tecidual, codificando proteínas de matriz extracelular (ACAN, VMO1, COL2A1, COL8A1) e as proteínas de adesão celular (CDH12) e de matriz celular-extracelular (CLEC3A). Outros genes estão envolvidos na proteção celular contra o estresse oxidativo (SERPINI2 e GPX2) e na diferenciação celular através da via de sinalização Wnt (SFRP2), (Figura 2).

A maioria dos genes down-regulados participa da contração muscular codificando componentes esqueléticos e cardíacos (TTN, MYLPP, TNNT3, MYL2, MYL3) e a proteína responsável pelo transporte de oxigênio nesses tecidos (MB). Outros genes estão associados à expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico (FABD9), codificando a proteína principal do leite (CSN1S1), e codificando uma enzima participante da edição do mRNA (APOBEC2), (Figura 2).

## Resultados

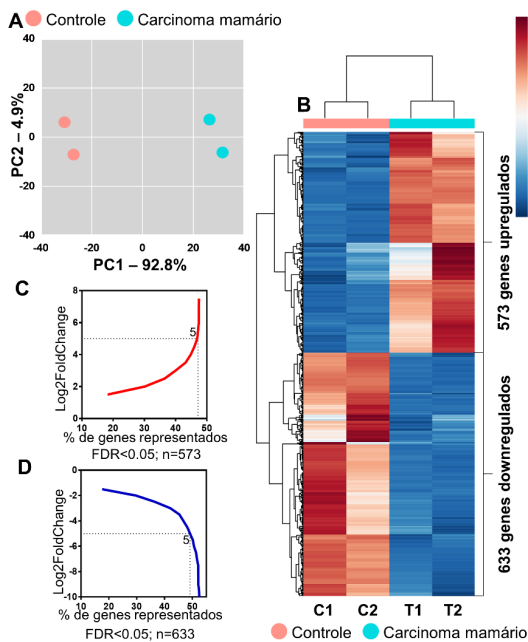


Figura 1 – Análise transcricional de amostras de carcinoma mamário ductal canino. (A) A Análise de Componentes Principais (PCA) da expressão dos genes do controle (em rosa) e carcinoma (em verde) mostrou uma porcentagem de variância alta entre os grupos controle e carcinoma de mama (PC1=92,8%, contido baixa dentro de cada grupo (PC2=4,9%). (B) Heatmap com os 1206 genes diferencialmente expressos entre os dois grupos, controle (em rosa) e carcinoma (em verde). (C) Gráfico de distribuição do log2fold change dos genes down-regulados (azul) e up-regulados (vermelho).

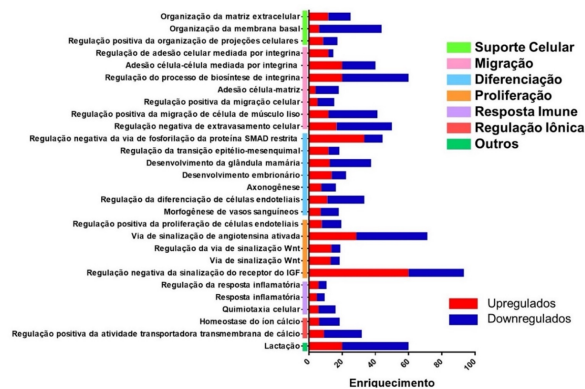


Figura 2 – Genes e vias celulares associados ao carcinoma mamário ductal canino. Análise de enriquecimento (GO) dos genes diferencialmente expressos, destacando as principais vias afetadas. As barras coloridas indicam a porcentagem de genes up-regulados (vermelho) e down-regulados (azul) dentro o total de genes de cada via.

## Conclusões

Este estudo apontou que os principais genes desregulados estão relacionados à maior agressividade e pior prognóstico no carcinoma mamário e em outros tumores humanos e caninos. Além disso, tais alterações permitiram inferir as principais vias desreguladas, o que contribuirá para um melhor entendimento da doença em cães e humanos. Por fim, o estudo do transcriptoma canino aponta que este é um excelente modelo para gerar informações relevantes para a oncologia em ambas as espécies.

## Contato

adriana.ferrasi@unesp.br