

DANIEL PINHEIRO FERREIRA, aluno de mestrado da UFTM; MILLENA BRANDÃO, aluna de biomedicina da UFTM; RAFAELA VIVIANE NEVES SILVA, aluna de mestrado da UFTM; KAREN BENTO RIBEIRO, oncologista da UFTM; JULIANA REIS MACHADO, professora da UFTM; REGIA CAROLINE PEIXOTO LIRA FUSCO professora da UFTM.

Introdução e Objetivo

O carcinoma de células renais é a neoplasia urológica mais letal. O tipo histológico mais comum é de células claras, seguido por papilar e cromóforo. As células cancerígenas apresentam níveis basais elevados de espécies reativas de oxigênio (EROs), quando comparadas com as células homólogas normais, causando citotoxicidade, danos no DNA e apoptose celular. Para prevenir o estresse oxidativo e manter homeostase as células tumorais desenvolvem mecanismos de defesa através da produção de moléculas antioxidantes que irão reduzir os níveis de EROs. O NADPH desempenha um papel fundamental nos sistemas de antioxidação celular, fornecendo equivalentes redutores para gerar formas reduzidas de moléculas antioxidantes, que são altamente eficazes no metabolismo biológicos de células cancerosas. A produção de NADPH é realizada pela ação de diferentes enzimas, as quais podem ser encontradas no citoplasma, mitocôndria e núcleo da célula a depender das suas funções metabólicas. O objetivo deste estudo foi associar a expressão gênica de enzimas reguladoras de NADPH com prognóstico do carcinoma renal.

Método

Análises *in silico* com dados disponíveis na plataforma R2: *Genomics Analysis and Visualization Platform* (<https://hgserver1.amc.nl/cgi-bin/r2/main.cgi>). A expressão gênica de 17 enzimas (ME1, ME2, ME3, G6PD, NADK, PGD, IDH1, IDH2, GLUD1, GLUD2, DHFR, MTHFD1, MTHFD2, MTHFD2L, ALDH1L1, ALDH1L2 e NNT) reguladoras de NADPH foi investigada em 485 carcinomas de células claras, 272 papilares e 81 cromóforos. Foram executadas análises estatísticas para avaliar associações da expressão das enzimas com prognóstico e evolução dos casos de câncer renal de acordo com o tipo histológico. Associações com parâmetros de estadiamento patológico, metástase e linfonodos positivos foram analisadas com testes não paramétricos de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Análises de sobrevida geral foram baseadas nas curvas de Kaplan-Meier e teste de log-rank, de acordo com alta/baixa expressão das enzimas (ponto de corte = mediana da expressão para cada gene/enzima). As análises foram realizadas, utilizando o programa Prism – GraphPad versão 9 e adotando valor de alpha de 0,05 para determinar significância estatística.

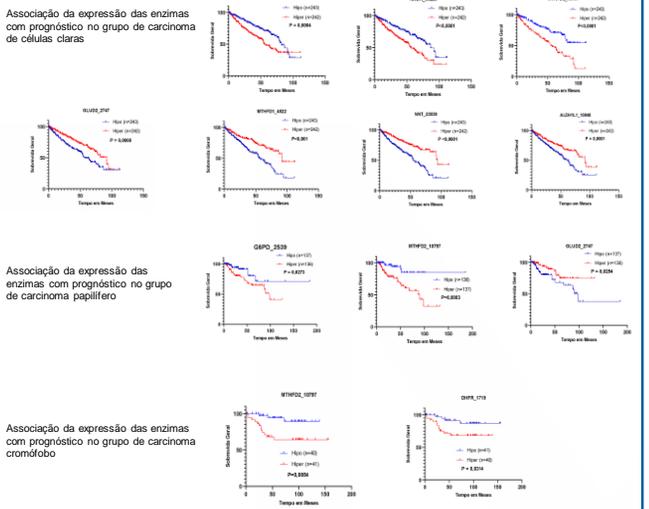
Figuras

Tabela de classificação das enzimas de acordo com os níveis de significância em cada parâmetro prognóstico analisado. De acordo com o valor de p, foram atribuídos pontos e uma classificação por tons de branco ao preto.

ENZIMAS	CARCINOMA DE CÉLULAS CLARAS																
	ME1	G6PD	NADK	PGD	IDH1	IDH2	ME2	ME3	GLUD1	GLUD2	DHFR	MTHFD1	ALDH1L1	ALDH1L2	MTHFD2	MTHFD2L	NNT
sobrevida geral*	0,5603	<0,0004	<0,0001	0,0892	0,2222	5,2623	0,5018	<0,0001	0,0120	0,0008	0,0202	<0,0001	0,0001	0,0238	<0,0001	0,0004	<0,0001
estadio tumoral*	0,3340	<0,0001	0,0002	0,0441	0,0268	0,2711	0,0020	0,2921	0,0008	0,0001	0,0001	<0,0001	0,0001	0,0001	<0,0001	0,0001	<0,0001
metástase*	0,8848	0,0004	0,0006	0,2688	0,0859	0,1820	0,3555	0,3488	0,0568	0,0001	0,0203	0,0181	0,0008	0,1020	<0,0001	0,0568	0,0001
linfonodos*	0,8827	0,0029	0,0005	0,0223	0,0547	0,5673	0,0202	0,3332	0,3822	0,1362	0,3025	0,0643	0,0482	0,0835	0,0024	0,1002	0,0797
SCORE	0	11	12	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1

ENZIMAS	CARCINOMA PAPILAR																
	ME1	G6PD	NADK	PGD	IDH1	IDH2	ME2	ME3	GLUD1	GLUD2	DHFR	MTHFD1	ALDH1L1	ALDH1L2	MTHFD2	MTHFD2L	NNT
sobrevida geral*	0,2275	0,0273	0,3722	0,7533	0,6438	0,8220	0,8848	0,7381	0,0714	0,0254	0,0125	0,6924	0,6624	0,0261	0,0068	0,1352	0,1117
estadio tumoral*	<0,0001	<0,0001	0,3115	0,0137	0,0011	0,0431	0,0417	0,2522	<0,0001	0,0011	0,0125	0,7176	0,3641	<0,0001	<0,0001	0,0011	0,0822
metástase*	0,4488	0,0001	0,3411	0,0116	0,0204	0,0777	0,1722	0,3978	0,0008	0,0116	0,0116	0,7521	0,3884	<0,0001	<0,0001	0,0068	0,0716
linfonodos*	0,6982	0,0137	0,8322	0,2321	0,2052	0,7877	0,2751	0,1061	0,0008	0,0482	0,0381	0,9678	0,6678	0,0548	0,0068	0,1352	0,0716
SCORE	4	8	0	2	2	1	1	0	10	5	1	0	0	5	14	2	2

ENZIMAS	CARCINOMA CROMÓFORO																
	ME1	G6PD	NADK	PGD	IDH1	IDH2	ME2	ME3	GLUD1	GLUD2	DHFR	MTHFD1	ALDH1L1	ALDH1L2	MTHFD2	MTHFD2L	NNT
sobrevida geral*	0,9203	0,1001	0,8402	0,8008	0,9202	0,9658	0,9648	0,6088	0,0001	0,0011	0,0116	0,9504	0,1411	0,3777	0,0068	0,1352	0,0482
estadio tumoral*	0,9203	0,1148	0,7302	0,9328	0,9001	0,8408	0,2921	0,1878	0,5231	0,6552	0,0041	0,0369	0,4241	0,0333	0,0137	0,4771	0,0482
metástase*	0,6172	0,3882	0,6002	0,8791	0,1121	0,6241	0,2029	0,0804	0,6871	0,9018	0,0449	0,0071	0,2617	0,0272	0,0068	0,3874	<0,0001
linfonodos*	0,9211	0,3284	0,8111	0,4014	0,9211	0,8111	0,7011	0,3111	0,7211	0,7021	0,0111	0,0221	0,4521	0,0333	0,0137	0,0716	0,0202
SCORE	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	6	3	0	1	8	0



Resultados

A análise dos níveis de expressão gênica das enzimas de acordo com os três tipos histológicos mostrou maior expressão significativa dos genes ME1, IDH1, DHFR e MTHFD2 nos carcinomas de células claras, quando comparados com os demais subtipos. Já as enzimas G6PD, NADK, PGD, GLUD1 e MTHFD1 apresentaram expressão elevada no grupo de tumores papilíferos, enquanto as enzimas IDH2, ME2, ME3, GLUD2, ALDH1L1, ALDH1L2, MTHFD2L e NNT tiveram níveis altos no grupo de carcinoma cromóforo. Em carcinomas de células claras, as enzimas que apresentaram alta expressão gênica relacionada com pior prognóstico da doença foram G6PD, NADK, MTHFD2, GLUD2, MTHFD1, ALDH1L1 e NNT. As demais enzimas ME1, PGD, IDH1, IDH2, ME2, ME3, GLUD1, DHFR, ALDH1L2 e MTHFD2L não apresentaram resultados significantes para os quatro parâmetros avaliados. No grupo de carcinoma papilífero, as enzimas G6PD e MTHFD2 apresentaram resultados significantes, relacionando a maior expressão gênica com pior prognóstico da doença. No entanto, as enzimas GLUD1 e GLUD2 apresentaram perfil contrário, o qual a baixa expressão gênica mostrou associação significativa com prognóstico desfavorável da doença. As demais enzimas não apresentaram resultados significantes. No caso do carcinoma cromóforo, apenas DHFR e MTHFD2 apresentaram associação significativa entre alta expressão gênica com pior prognóstico da doença (para os quatro parâmetros avaliados). De maneira interessante, os resultados das análises mostraram que a alta expressão do MTHFD2 está associada de maneira significativa com pior prognóstico do câncer renal nos três tipos histológicos.

Conclusão

Podemos concluir que o perfil de expressão gênica de várias enzimas produtoras de NADPH possui potencial aplicação para avaliação do prognóstico do câncer renal. A maior expressão de algumas enzimas mostraram associação com pior prognóstico (G6PD, NADK, MTHFD2, DHFR), menor sobrevida geral, maior estadiamento, presença de metástase e linfonodos acometidos pelo câncer. Por outro lado, a maior expressão de outro grupo de enzimas indicou melhor prognóstico da doença (GLUD2, MTHFD1, ALDH1L1, NNT e GLUD2)

Referências

BUKAVINA, Laura et al. Epidemiology of renal cell carcinoma: 2022 update. *European urology*, 2022.

NOGUEIRA, Veronique; HAY, Nissim. Molecular pathways: reactive oxygen species homeostasis in cancer cells and implications for cancer therapy. *Clinical Cancer Research*, v. 19, n. 16, p. 4309-4314, 2013.

PRAMONO, Alvinsyah Adhityo et al. NAD-and NADPH-contributing enzymes as therapeutic targets in cancer: an overview. *Biomolecules*, v. 10, n. 3, p. 358, 2020.