

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS miRNAS 181a-5p e 182-5p EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM NEUROBLASTOMA

Karine Fiorentin
karinefiorentin87@gmail.com
Solange Gomes da Silva Ferreira
Dra. Selene E. Esposito
Dra. Lúcia de Noronha
Dra. Aline S. Fonseca
Dra. Luciane R. Cavalli

INTRODUÇÃO: O neuroblastoma (NB) é um tumor derivado de células primitivas do sistema nervoso simpático, sendo o tumor sólido mais comum na infância. É reconhecido como uma malignidade complexa e heterogênea e com prognóstico dependente de fatores clínicos que incluem idade, fase de diagnóstico e tipo histológico. A regressão espontânea do tumor pode ocorrer em alguns casos, no entanto aproximadamente 50% dos pacientes apresentam doença metastática ao diagnóstico. Dentre os principais locais afetados por metástases, estão os ossos, medula óssea, gânglios linfáticos, fígado e pele (GALARDI et al., 2017). MicroRNAs (miRNAs) são moléculas de RNAs não codificantes que regulam a pós-transcrição gênica. A expressão aberrante de miRNAs está associada ao desenvolvimento e progressão do câncer, através da regulação de genes envolvidos em vias de sinalização relacionadas à proliferação, migração, invasão, morte celular programada e/ou sobrevivência celular (HE et al., 2015). A expressão dos miR-181a-5p (localizado em 1q32.1) e miR-182-5p (localizado em 7q32.2), miRNAs avaliados neste estudo, foi demonstrada atuando no desenvolvimento e progressão de uma série de carcinomas, incluindo o hepatocelular, mamário, gástrico, pancreático e pulmonar (ARAVINDAN et al, 2019). Entretanto, apesar da importância destes miRNAs em diferentes tumores, há poucos estudos envolvendo-os em NB. Além disto, apesar dos avanços clínicos significativos alcançados nas últimas décadas para o diagnóstico, prognóstico e tratamento de pacientes pediátricos com NB, é cada vez mais evidente a importância da utilização de métodos de biologia molecular para auxiliar de forma mais substantiva e consistente estes procedimentos clínicos. **OBJETIVOS:** Considerando o acima exposto, o objetivo principal deste trabalho é a determinação da expressão dos miR-181a-5p e 182-5p, em amostras biológicas tumorais de pacientes pediátricos portadores de NB, para a determinação de seus potenciais como marcadores moleculares de prognóstico e de predição a resposta ao tratamento. **MÉTODOS:** Amostras de tecido de 60 casos de neuroblastoma pediátrico foram obtidos retrospectivamente de pacientes do Hospital Pequeno Príncipe (HPP), diagnosticados no período entre 2005 a 2014. Todas as amostras foram obtidas com termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e com aprovação do Comitê de Ética do HPP. O material em “punchs” de parafina foi submetido à extração de RNA, transcrição reversa e amplificação por PCR em tempo real (RT-qPCR) utilizando-se sondas e primers específicos para os miR-181a-5p e 182-5p e para o controle endógeno RNU48 (Applied Biosystems). Todas as análises foram realizadas em triplicatas, e os dados apresentados em médias \pm DP e valor de $P \leq 0.05$. A expressão relativa dos miRNA em relação ao miRNA endógeno foi calculada utilizando-se o método de $2^{-\Delta Ct}$.

RESULTADOS: As reações de amplificação dos miRNAs foram conclusivas para todas as amostras avaliadas. Considerando-se *fold change* (FC) ≥ 2.0 ($\log_2=1.0$) foi observado para o miR-181a-5p, dois e 47 casos com expressão aumentada e diminuída, respectivamente, em relação ao controle endógeno e 11 casos não diferencialmente expressos. Para o miR-182-5p, todas as amostras apresentaram expressão diminuída em relação ao endógeno, exceto uma que não foi diferencialmente expressa.

CONCLUSÃO: Estas análises demonstram que os miR-181a-5p e miR-182-5p apresentam expressão alterada em alta frequência de pacientes pediátricos com NB. Análises em andamento incluem a determinação da expressão destes miRNAs em tecido normal adjacente ao tumoral dos mesmos casos (análises pareadas) para a determinação da especificidade tumoral das alterações de expressão observadas. Após esta análise, e associação com os dados clínicos dos pacientes, poderá se avaliar o potencial uso destes miRNAs como biomarcadores moleculares para a identificação de grupos de risco, na predição do prognóstico e da resposta ao tratamento de pacientes pediátricos com NB.

PALAVRAS-CHAVE: Neuroblastoma, miRNAs, miR-181-5p, miR-182-5p.

REFERÊNCIAS:

- ARAVINDAN, N. et al. MicroRNAs in neuroblastoma tumorigenesis, therapy resistance, and disease evolution. **Cancer Drug Resistance**, p. 1086–1105, 2019.
- GALARDI, A. et al. MicroRNAs in Neuroblastoma: Biomarkers with Therapeutic Potential. *Current Medicinal Chemistry*, v. 25, n. 5, p. 584–600, 2017.
- HE, S. et al. Hsa-microRNA-181a is a regulator of a number of cancer genes and a biomarker for endometrial carcinoma in patients: A bioinformatic and clinical study and the therapeutic implication. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 9, p. 1103–1175, 2015.

Pesquisa deve incluir: introdução, objetivos, métodos, resultados e conclusão; Todos os resumos devem ser enviado para o endereço de e-mail: fernanda.biernatski@fpp.edu.br.