



ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO MIR-22 EM UMA LINHAGEM CELULAR DE CÂNCER DE BOCA

Orlando Ronaldy da Silva Santos¹, Filipe de Albuquerque Silva ², Italo Alves Santos³,
Guilhermie Duarte de Melo⁴, Inayanne Praxedes de Abreu⁵, Haruko Imai⁶, Carlos Arthur
Cardoso Almeida⁷

^{1, 2, 3, 4}Aluno PIBIC. LADITEC - Laboratório de Diagnósticos de Doenças Complexas e
Terapia Celular. Curso de Farmácia. Escola de Enfermagem e Farmácia - ESENFAR.

Universidade Federal de Alagoas - UFAL, ^{5, 6}Aluno IC. LADITEC - Laboratório de
Diagnósticos de Doenças Complexas e Terapia Celular. Curso de Farmácia. Escola de
Enfermagem e Farmácia - ESENFAR. Universidade Federal de Alagoas - UFAL,

⁷Professor de Citologia Clínica e Hematologia Clínica. Coordenador LADITEC -
Laboratório de Diagnósticos de Doenças Complexas e Terapia Celular. Curso de Farmácia.
Escola de Enfermagem e Farmácia - ESENFAR. Universidade Federal de Alagoas - UFAL

orlando.ronaldy@gmail.com, filipealbuquerque_@hotmail.com, italosantos@hotmail.com,
melo.guilhermieduarte@gmail.com, inayanne.abreu@esefar.ufal.br,
harukoimai@hotmail.com, c_arthur_almeida@msn.com

Tipo de Apresentação: Comunicação oral.

1. Introdução

MicroRNAs (ou miRNAs) são pequenos RNAs não-codificantes, capazes de regular a expressão gênica em nível pós-transcricional através da degradação ou repressão da tradução de moléculas-alvo de RNA mensageiro (RNAm). A expressão dos miRNAs apresenta-se desregulada em diversos processos patológicos, incluindo o câncer.

O câncer de boca é um dos tipos de câncer mais prevalentes em todo o mundo. Alguns estudos têm investigado a importância de alterações na expressão de microRNAs no processo fisiopatológico desta doença, porém as informações disponíveis até o momento sobre tal associação ainda são escassas e este mecanismo permanece pouco esclarecido. Baseados em nossos estudos anteriores (dados ainda não publicados), selecionamos o miR22 para análise da expressão in vitro em uma linhagem de células de CA de boca.



O objetivo geral deste estudo é avaliar a expressão do miR-22 em uma linhagem H413, antes e depois de tratada com Citarabina, Daunorubicina e Cisplatina, drogas comumente utilizadas no tratamento desta malignidade, como também determinar a IC50 para estas drogas na linhagem em questão.

2. Referencial Teórico

A primeira associação entre um miRNA e câncer foi descrita em Leucemia Linfocítica Crônica. (KUSENDA et al., 2006; MRAZ E POSPISILOVA, 2012) E muitos outros miRNAs identificados foram subsequentemente também associados com outros tipos de câncer. Pesquisas mostram que os miRNAs podem ser encontrados estimulando a proliferação celular e inibindo a ação de genes que controlam a apoptose, podendo estar superexpressos ou com expressão reduzida em tumores malignos. (KUSENDA et al., 2006; MRAZ et al., 2009)

O Câncer possui uma fisiopatologia complexa, considerado como um importante problema de saúde pública. Os casos de câncer de boca, em especial, vêm crescendo em todo mundo por conta do uso indiscriminado de tabaco e álcool, que são fatores de risco reconhecidos para este tipo de patologia. No Brasil, a maior incidência deste tipo de Câncer é na população masculina residente na região sudeste. (GUERRA et al, 2005)

Quimioresistência é processo no qual as drogas usadas no tratamento do câncer perdem sua efetividade, quando as células transformadas adquirem resistência às mesmas, acarretando em falha da quimioterapia. A expressão alterada de microRNAs tem sido apontada como fator importante no mecanismo de quimioresistência. (DONZELLI, 2014)

3. Metodologia

Neste estudo foi usado a linhagem H413. As culturas foram mantidas a 37°C em estufa de CO2 e repassadas a cada 72hrs para manutenção das mesmas. Inicialmente foram testadas a estabilidade e a eficácia das drogas (Daunorrubicina, Citarabina e Cisplatina) nas linhagens selecionadas, procedendo-se à determinação da IC50 de cada uma isoladamente e combinadas entre si (Daunorrubicina + Citarabina; Daunorrubicina + Cisplatina; Citarabina + Cisplatina; Daunorrubicina + Citarabina + Cisplatina). A extração do RNA foi feita em



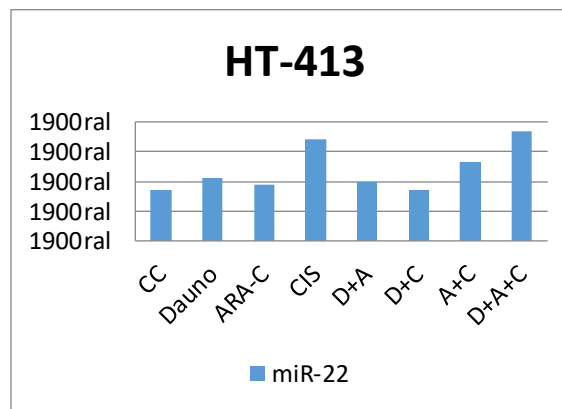
sistema automatizado - Maxwell ® Promega, usando os kits e seguindo o protocolo do fabricante. Por fim, os níveis de expressão do miR-22 foram avaliados por qRT-PCR nas amostras antes e após tratamento com as drogas. Células não tratadas foram usadas como controle.

4. Resultados e Discussões

A expressão do miR-22 se mostrou alterada ($p < 0,05$) em todas as amostras tratadas. A cisplatina apresentou o maior nível de expressão dentre as drogas isoladas (3,4 fold); controle (1,7 fold); daunorrubicina (2,0 fold) e citarabina (1.88 fold). As amostras tratadas com as 03 drogas combinadas também apresentaram um alto nível de expressão (3,68 fold), superior ao da cisplatina.

O miR-22 encontra-se naturalmente expresso nas células H413. Após o tratamento com as drogas, houve um aumento nos níveis de expressão do miR-22, principalmente nas células tratadas com cisplatina, que está entre as drogas de primeira escolha para o tratamento do CA de boca, e com as 3 drogas combinadas, como pode ser visto no gráfico abaixo.

Figura 1 - Expressão do miR-22 em células de HT413 72hr após o tratamento com Daunorrubicina (D); Citarabina (ARA-C; A); Cisplatina. CC (Controle).



Os resultados desse trabalho sugerem a participação deste microRNA em um mecanismo de quimiorresistência nas células da linhagem em estudo, contudo, mais estudos serão necessários para elucidar este mecanismo.

Referências



- DONZELLI, S. MicroRNAs: short non-coding players in cancer chemoresistance. **Molecular and Cellular Therapies** [2052-8426] yr:2014 vol:2 pg:16
- GUERRA, M. R.; GALLO, C. V. M.; MENDONÇA, G. A. S. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Revista Brasileira de Cancerologia** 2005; 51(3): 227-234
- LAGOS-QUINTANA, M.; RAUHUT, R.; LENDECKEL, W; TUSCHL, T. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs, **Science** 294 (2001) 853–858.
- LEE, R. C.; AMBROS, V. Anextensive classof small RNAs inCaenorhabditis elegans, **Science** 294 (2001) 862–864 Koturbash I et al., Small molecules with big effects: The role of the microRNAome in cancer and carcinogenesis **Mutation Research** 722 (2011) 94–105
- KOTURBASH, I et al., Small molecules with big effects: The role of the microRNAome in cancer and carcinogenesis **Mutation Research** 722 (2011) 94–105
- KRAMER, M. F. STEM-LOOP RT-qPCR for miRNAS. **Curr Protoc Mol Biol.** 2011 July; CHAPTER: Unit15.10. doi:10.1002/0471142727.mb1510s95
- KUSENDA, B.; MRAZ, M; MAYER, J; POSPISILOVA, S. (November 2006). "MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance". **Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia** 150 (2): 205–15. doi:10.5507/bp.2006.029.
- MRAZ, M.; POSPISILOVA, S. "MicroRNAs in chronic lymphocytic leukemia: from causality to associations and back". **Expert Review of Hematology** 5 (6): 579–81. doi:10.1586/ehm.12.54. Phelan, Mary C. **Basic Techniques for Mammalian Cell Tissue Culture. Current Protocols in Cell Biology** (2012).
- MRAZ, M.; POSPISILOVA, S.; MALINOVA, K.; SLAPAK, I.; MAYER, J. "MicroRNAs in chronic lymphocytic leukemia pathogenesis and disease subtypes". 2009. **Leuk. Lymphoma.** 2009. 50 (3): 506–9. doi:10.1080/10428190902763517
- ZHANG, Y et al. Overexpression of miR-22 reverses paclitaxel-induced chemoresistance through activation of PTEN signaling in p53-mutated colon cancer cells Jian Li. **Mol Cell Biochem** (2011) 357:31–38 DOI 10.1007/s11010-011-0872-8.
- LU, Y-C.; CHENG, A. J. Profiling of microRNA in oral cancer cells identifying miR-10b functions in oncogenesis and up-regulates in plasma of oral cancer patients. **Cancer Res** April 15 2011 (71) (8 Supplement) 162; DOI: 10.1158/1538-7445.AM2011-162.