

Vivian Grizente (IC), Ilana Zalberg; Simone Bonecker;
Laboratório de Biologia Molecular – Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO) / INCA

INTRODUÇÃO

Os pequenos RNAs endógenos não-codificantes com função regulatória, conhecidos como microRNAs, tem um papel importante no estudo do câncer, visto que tanto o aumento quanto a perda de atividade de miRNAs relacionados à oncogenes ou genes supressores de tumor estão envolvidas na formação das células tumorais, como visto no esquema da figura 1. A identificação de um padrão de expressão e de quais genes são regulados pelos miRNAs nos vários tipos de câncer pode tornar viável o desenvolvimento de novas terapias, assim como levar a uma maior compreensão do desenvolvimento da patologia, determinando se os miRNAs são causa ou consequência nesse modelo estudado. A leucemia mielóide crônica é caracterizada por uma excessiva proliferação da linhagem mielóide, o que leva à escolha do miR-155 como alvo principal do estudo, tendo sido este já validado experimentalmente como parte importante na regulação da mielopoiese. Também foram escolhidos outros miRNAs que sabe-se estarem relacionados com a expressão do gene BCR-ABL, característico da translocação diagnóstica de LMC, chamado de cromossomo Philadelphia, sendo estes o miR-451 e o miR-203.

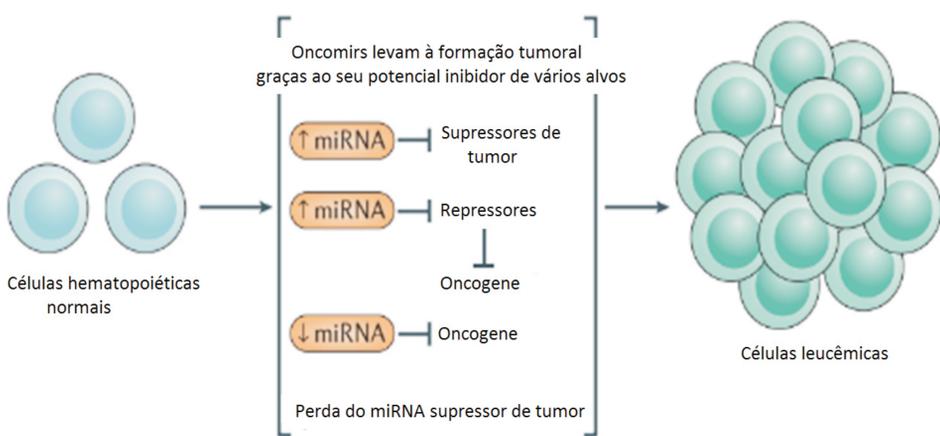


Figura 1. Mecanismos conhecidos de miRNAs com expressão aberrante que podem levar à formação tumoral. Adaptado de Baltimore, B e Mehta, A.

OBJETIVOS

- Elaborar um perfil de expressão dos três miRNAs em diferentes estágios do tratamento;
- Determinar possíveis alvos dos miRNAs que demonstrarem variação através da análise in silico;
- Avaliar a expressão desses genes alvos, a fim de correlacioná-los com a dos miRNAs verificados.

PACIENTES E MÉTODOS

	Ao diagnóstico	Resistentes
Homens	8	1
Mulheres	9	5
Total	17	6
Idade média	53 anos	35 anos

Figura 2. Tabela de dados dos pacientes incluídos na coorte inicial avaliada.



Figura 3. Metodologia para obtenção de cDNA a partir da amostra disponível no hospital.

A quantificação relativa das amostras de cDNA foi realizada através do método de CT comparativo feito por PCR em tempo real, utilizando como base o sno endógeno RNU48. A análise dos resultados da quantificação relativa foi feita pelo GenEx e os cálculos estatísticos utilizando o software GraphPad.

RESULTADOS PRELIMINARES

Primeiramente foi realizada uma análise em coorte mista de 22 pacientes afim de determinar o melhor sno endógeno, utilizando o método do CT comparativo feito por PCR em tempo real e as análises estatísticas do NormFinder e Genorm (respectivamente, figuras 4 e 5).

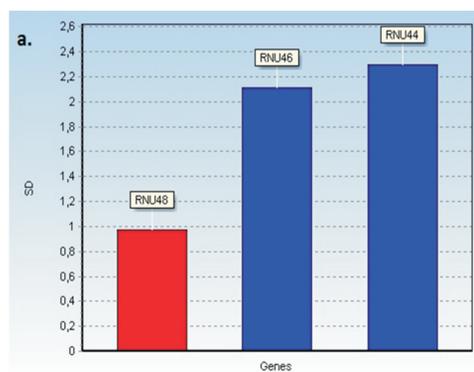


Figura 4: Análise pelo NormFinder

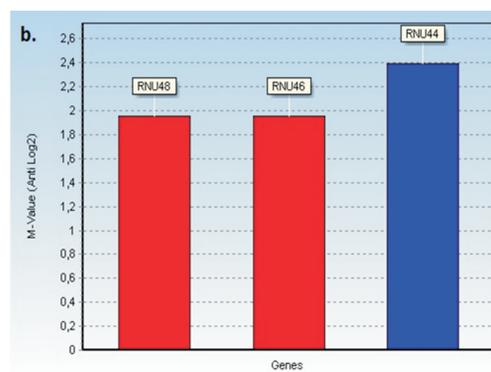


Figura 5: Análise pelo GeNorm

A análise das 22 amostras iniciais já nos permitiu delinear um valor de mediana para os dois subgrupos analisados, com valor de P de 0,18. (figura 6). O espalhamento dos genes também pode ser visto na delimitação do gráfico na figura d, corroborando a utilização do RNU48 como um endógeno adequado para a proposta da pesquisa (figura 7).

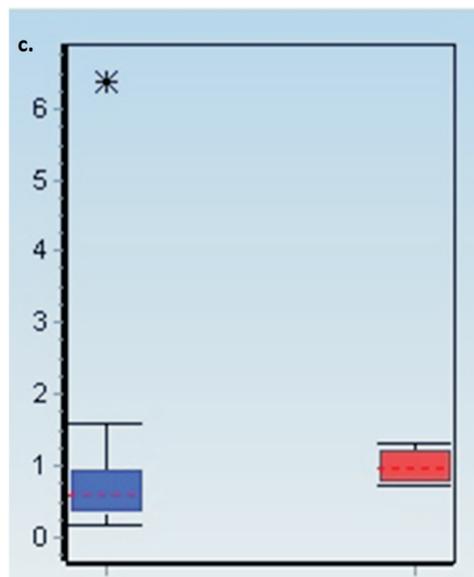


Figura 6: Box plot da qualificação, em vermelho, resistentes, em azul, ao diagnóstico

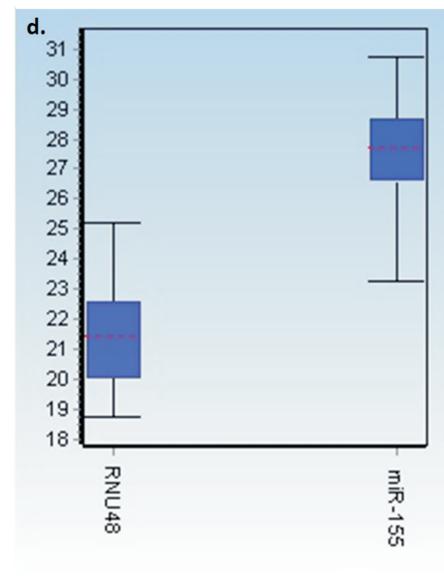


Figura 7: Espalhamento dos genes utilizados.

RESULTADOS ESPERADOS E PERSPECTIVAS

Se mostra necessário a realização de um aumento da coorte afim de gerar dados que tenham uma expressão estatística mais relevante, assim como a adição de um grupo extra com pacientes respondedores, para assim determinar valores de referência no mecanismo de resistência em comparação aos grupos iniciais já vistos. Se encontram em produção as análises com os outros miRNAs para fins de comparação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baltimore, B e Mehta A. MicroRNAs as regulatory elements in immune system logic. Nature Reviews, 16 279–294 (2016).
Georgantas III, RW et al. CD34+ hematopoietic stem-progenitor cell microRNA expression and function: a circuit diagram of differentiation control. PNAS, 104:2750-2755 (2007).