

Identificação de genes e vias alvos de microRNAs alterados em neoplasias intraepiteliais cervicais

Identification of altered microRNA target genes and pathways in cervical intraepithelial neoplasia

Identificación de genes diana de microARN alterados y vías en la neoplasia intraepitelial cervical

Recebido: 11/02/2022 | Revisado: 18/02/2022 | Aceito: 26/02/2022 | Publicado: 08/03/2022

Larissa Rodrigues de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4539-3189>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: larissa.rsousa@outlook.com

Eleilde Almeida Araujo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4054-6131>
Universidade Federal do Maranhão, Brasil
E-mail: eleildealmeida@gmail.com

Eldevan da Silva Barbosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6469-7367>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: eldevansb@gmail.com

Thaís da Conceição Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5365-728X>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: thais12612@gmail.com

Wemerson Matheus Matos Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8800-8933>
Faculdade Supremo Redentor, Brasil
E-mail: wmatheus9835@gmail.com

Alania Frank Mendonça

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2081-8710>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: frank.allanya@gmail.com

Ana Gabrielly de Mello Matos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2414-1567>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: gabriellyana3@gmail.com

Francisca de Brito Araujo Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0246-3984>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: franciscaaraujo37006@gmail.com

Ana Carla Silva Jansen

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8219-0957>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: jansencarla96@gmail.com

Wesliany Everton Duarte

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7737-0830>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: weslianyed@gmail.com

Jaqueline Diniz Pinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2543-4257>
Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
E-mail: jackdpinho@gmail.com

Resumo

Os microRNAs são moléculas de RNA de fita simples, não-codificantes de proteínas, com cerca de 18-25 nucleotídeos, os quais são capazes de regular a expressão a nível pós-transcricional. A sua desregulação tem sido largamente estudada em câncer, porém pouco tem sido documentada em lesões pré-malignas, como as Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC). Neste contexto, este estudo tem como objetivo fazer uma busca na literatura dos microRNAs associados a NICs, assim como realizar a predição *in silico*, a fim de conhecer os principais genes e vias que são regulados por estes. Para isso, foi feita uma busca na literatura quanto à associação dos microRNAs em lesões

pré-neoplásicas em câncer cervical. A pesquisa foi realizada em bases de dados, como o Pubmed e Science Direct, e foram selecionados e analisados artigos científicos com data de publicação entre os anos de 2010 a 2021. Em seguida, foi feita uma pesquisa dos genes alvos e vias envolvidas dos microRNAs, através de ferramentas de bioinformática. De acordo com os critérios de seleção de inclusão e não inclusão, foram incluídos na revisão de literatura 8 artigos, os quais totalizaram 22 microRNAs desregulados em lesões intraepiteliais cervicais, sendo 18 microRNAs em lesões de alto grau e 4 microRNAs de lesões de baixo grau. A análise *in silico* revelou que estes microRNAs regulam genes como: *FZD7*, *ESR1* e *BRAF*, os quais estão envolvidos nas principais vias da carcinogênese, como a via dos proteoglicanos e células-tronco. Os dados apresentados demonstram a desregulação destas biomoléculas em amostras pré-malignas do câncer cervical.

Palavras-chave: NIC; MicroRNAs; *In silico*; Vias.

Abstract

MicroRNAs are single-stranded, non-protein-coding RNA molecules of about 18-25 nucleotides, which are capable of regulating expression at the post-transcriptional level. Its dysregulation has been widely studied in cancer, but little has been documented in pre-malignant lesions, such as Cervical Intraepithelial Neoplasms (CIN). In this context, this study aims to search the literature for microRNAs associated with NICs, as well as perform *in silico* prediction, in order to know the main genes and pathways that are regulated by them. For this, a search was carried out in the literature regarding the association of microRNAs in pre-neoplastic lesions in cervical cancer. The research was carried out in databases such as Pubmed and Science Direct, and scientific articles with publication date between the years 2010 to 2021 were selected and analyzed. , through bioinformatics tools. According to the inclusion and non-inclusion selection criteria, 8 articles were included in the literature review, which totaled 22 deregulated microRNAs in cervical intraepithelial lesions, with 18 microRNAs in high-grade lesions and 4 microRNAs in low-grade lesions. *In silico* analysis revealed that these microRNAs regulate genes such as: *FZD7*, *ESR1* and *BRAF*, which are involved in major carcinogenesis pathways, such as the proteoglycan and stem cell pathway. The data presented demonstrate the deregulation of these biomolecules in pre-malignant cervical cancer samples.

Keywords: NIC; MicroRNAs; *In silico*; Pathways.

Resumen

Los microARN son moléculas de ARN monocatenarias, no codificantes de proteínas, de aproximadamente 18-25 nucleótidos, que son capaces de regular la expresión a nivel postranscripcional. Su desregulación se ha estudiado ampliamente en el cáncer, pero se ha documentado poco en lesiones premalignas, como las neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC). En este contexto, este estudio tiene como objetivo buscar en la literatura microRNAs asociados a NICs, así como realizar predicciones *in silico*, con el fin de conocer los principales genes y vías que están regulados por ellos. Para ello se realizó una búsqueda en la literatura respecto a la asociación de microRNAs en lesiones preneoplásicas en cáncer de cérvix. La investigación se realizó en bases de datos como Pubmed y Science Direct, y se seleccionaron y analizaron artículos científicos con fecha de publicación entre los años 2010 al 2021, a través de herramientas bioinformáticas. De acuerdo con los criterios de selección de inclusión y no inclusión, se incluyeron 8 artículos en la revisión de la literatura, que totalizaron 22 microARN desregulados en lesiones intraepiteliales cervicales, con 18 microARN en lesiones de alto grado y 4 microARN en lesiones de bajo grado. El análisis *in silico* reveló que estos microARN regulan genes como: *FZD7*, *ESR1* y *BRAF*, que están involucrados en las principales vías de carcinogénesis, como la vía de los proteoglicanos y las células madres. Los datos presentados demuestran la desregulación de estas biomoléculas en muestras premalignas de cáncer de cuello uterino.

Palabras clave: NIC; MicroARNA; *In silico*; Caminos.

1. Introdução

O Câncer Cervical (CC) é uma neoplasia maligna, destaca-se como o quarto tipo de câncer feminino e a segunda causa mais comum de mortes em mulheres que vivem em países subdesenvolvidos (Jiang *et al.*, 2020; ONU, 2020). Em 2020 cerca de 604 mil mulheres foram diagnosticadas com câncer cervical e 342 mil morreram da doença (ONU, 2020). De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se no Brasil 16.710 novos casos de CC entre os anos de 2020-2022, isso corresponde a 7,5% de todos os cânceres femininos, tornando-o um importante problema de saúde pública (INCA, 2020).

A origem do CC ocorre por meio de um lento processo de ruptura da maturação normal da zona de transformação (ZT) epitelial do cérvix uterino próximo a junção escamo colunar (JEC) (Stumbar *et al.*, 2018). A história natural desta

neoplasia encontra-se relacionada a presença persistente da infecção de Papilomavírus Humano (HPV) oncogênico, podendo levar a anomalias celulares do epitélio, lesões conhecidas como Neoplasias Intraepiteliais Cervicais (NIC).

As NICs são lesões pré-malignas que podem ser histologicamente confirmadas através de biópsia, e são divididas em três estágios (I, II e III). Estas lesões pré-malignas são classificadas histologicamente com base nos aspectos morfológicos e progressivos das células epiteliais em: NIC I- displasia média; NIC II-displasia moderada e NIC III- displasia severa, na qual pode evoluir para um câncer invasivo (carcinoma *in situ*) (Pardini *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2020).

Na sua totalidade estima-se que cerca de 70% das mulheres são afetadas, sendo que as NICs II e III podem persistir e progredir para um câncer cervical (Santesso *et al.*, 2015). Esses tipos de lesões estão associados a infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV), que quando apresenta os subtipos 16 e 18, podem desencadear o câncer cervical invasivo em 10-20 anos (Castle *et al.*, 2017). Neste contexto, pesquisas que visam entender os fatores moleculares destas lesões são importantes.

Apesar de mais de 90% dos casos de câncer cervical serem causados por infecção por HPV, individualmente, este não é o suficiente para induzir a malignidade sendo necessários associações com outros cofatores de risco, como o início precoce da atividade sexual, múltiplos parceiros, tabagismo, associação com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids) e o uso prolongado de pílulas anticoncepcionais (Johnson *et al.*, 2019; Cohen *et al.*, 2019; INCA, 2020).

Além dos cofatores associados a progressão do câncer cervical, alterações epigenéticas, como desregulação da expressão de microRNA (miRNA), são frequentemente observadas em CC, porém, os mecanismos e o papel da desregulação do miRNA em NICs ainda são amplamente desconhecidos (Pardini *et al.*, 2020). Os microRNAs são considerados como potenciais biomarcadores de diagnóstico para CC. No entanto, há uma escassez de informações sobre o valor diagnóstico de miRNAs para NIC (Jiang *et al.*, 2020).

Os microRNAs são pequenos RNAs não codificantes desempenha papéis importantes e regula principalmente a expressão gênica pós-transcricional, promovendo a degradação do RNA mensageiro (mRNA) ou reprimindo a tradução do mRNA (Acunzo *et al.*, 2015). Essas moléculas têm sido mostradas como importantes reguladores em uma variedade de processos celulares que envolvem o desenvolvimento, a diferenciação e a sinalização.

Além de estarem associados a várias doenças humanas, incluindo câncer e disfunção imunológica (Mahesh & Biswas, 2019). Devido a isso, faz-se necessário estudar o papel destas biomoléculas em lesões pré-cancerosas, a fim de entender os mecanismos iniciais da carcinogênese. Neste contexto, este estudo tem como objetivo buscar e identificar na literatura microRNAs associados a neoplasias intraepiteliais cervicais, assim como realizar a predição *in silico*, a fim de conhecer os principais genes e vias que são regulados por estes.

2. Metodologia

2.1 Caracterização do estudo

Buscou analisar na literatura a associação dos microRNAs em lesões intraepiteliais cervicais de alto grau e baixo grau. A pesquisa foi realizada em bases de dados, como o *National Library of Medicine National Institutes of Health* (PubMed) (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *Science Direct* (<https://www.sciencedirect.com/>). Foram selecionados e analisados artigos científicos com data de publicação entre os anos de 2010 a 2021. As palavras-chave para a busca dos trabalhos foram: “Cervical Intraepithelial Neoplasm” ou “Intraepithelial cervical Neoplasm miRNA”. De cada estudo, foram registradas as seguintes informações: os microRNAs, tipo de expressão, qual o tipo neoplasia intraepitelial, metodologia e a referência.

2.2 Critérios de inclusão e não inclusão

Foram incluídos neste estudo artigos publicados em inglês com data entre os anos de 2010 a 2021, artigos de pesquisa, revisão sistemática e revisão de literatura.

Não foram incluídos neste estudo resumos de congresso, monografias, dissertações e teses.

2.3 Análise de Bioinformática

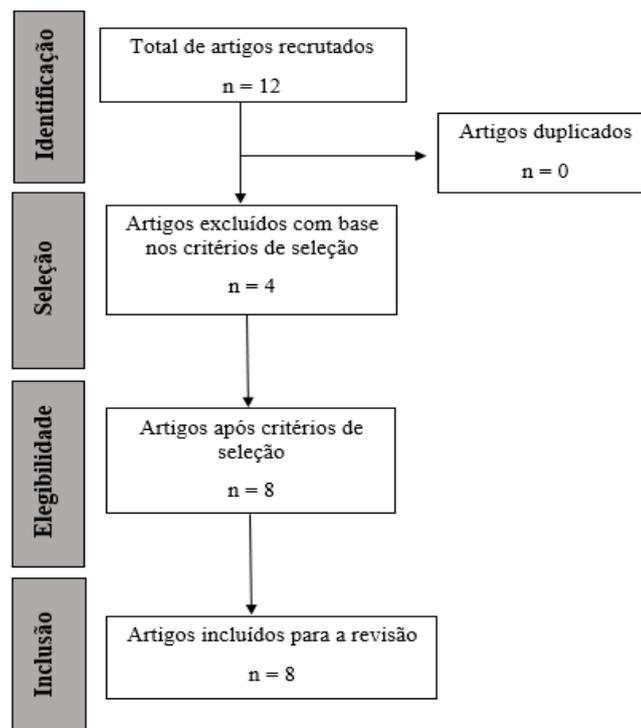
Para realizar a busca dos genes alvos e vias envolvidas dos microRNAs abordados neste estudo utilizou-se bases de dados como TargetScan (<http://www.targetscan.org/>); miTarbase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>); GeneOntology (<http://geneontology.org/>) e KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

3. Resultados

3.1 Caracterização dos estudos incluídos

Os dados extraídos dos artigos selecionados foram incluídos de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, como mostra o fluxograma de seleção dos estudos (Figura 1). De acordo com os critérios de seleção de inclusão e não inclusão, foram incluídos na revisão de literatura 8 artigos. Após a leitura destes manuscritos foram utilizadas as informações necessárias.

Figura 1. Fluxo de artigos localizados durante a revisão de literatura de acordo com a base de dados.



Fonte: Autores (2021).

3.2 MicroRNAs de baixo grau

De acordo com a pesquisa realizada foram observados 4 microRNAs associados com NICs de baixo grau. Conforme ilustrado na Tabela 1, *miR-92a-3p*, *miR-183-5p*, *miR-126-3p* e *miR-20b-5p* foram regulados negativamente em lesões de baixo grau.

Tabela 1. MicroRNAs observados na literatura associados com Neoplasias Intraepiteliais Cervicais de baixo grau.

MicroRNAs	Tipo de lesão	Tipo de Expressão	Técnica	Referência
<i>miR-92a-3p</i>	NIC I*	↑*	Microarray e qPCR	Liu <i>et al.</i> , 2018
<i>miR-183-5p</i>	NIC I	↑		Liu <i>et al.</i> , 2018
<i>miR-126-3p</i>	LSIL/NIC***	↓**	Microarray e qPCR	Kawai <i>et al.</i> , 2018
<i>miR-20b-5p</i>	LSIL/NIC	↓		Kawai <i>et al.</i> , 2018

*= microRNA com alta expressão. **= microRNA com baixa expressão. ***= Neoplasm Intraepithelial Low Degree. Fonte: Autores (2021).

Foi realizada a busca dos genes regulados por estes microRNAs desregulados em lesões de baixo grau. Observamos a participação de vinte e um genes, os quais estão envolvidos na via de regulação citoesqueleto. (Tabela 2).

Tabela 2. Análise *in silico* das vias reguladas pelos microRNAs observados em neoplasias intraepiteliais de baixo grau.

Vias	Genes alvos	p-value
Regulação de actina no citoesqueleto	<i>BRAF; CHRM5; WASL; ITGA8; PIK3CB; PIP5K1C; TMSB4Y; ITGA5; ABI2; ITGAV; SLC9A1; PIKFYVE; PPP1R12A; PIK3R3; IQGAP2; CDC42; PPP1R12C; PIK3CA; ITGA6; PIP4K2C; ITGB3</i>	0,02619179

Fonte: Autores (2021).

3.3 MicroRNAs de alto grau

De acordo com a pesquisa realizada foram observados 18 microRNAs desregulados em NICs de alto grau, conforme mostra a tabela 3. Destes 18, *miR-212-5p*, *miR-515-5p* e *miR-218- 5p* apresentaram baixa expressão em comparação com amostras cervicais normais. Enquanto os demais tiveram alta expressão quando comparado a tecido normal.

Tabela 3. MicroRNAs observados na literatura associados com Neoplasias Intraepiteliais Cervicais de alto grau.

MicroRNAs	Tipo de lesão	Tipo de Expressão	Técnica	Referência
<i>miR-20a-5p</i>	NIC I*	↑	qPCR	Ye <i>et al.</i> , 2019
<i>miR-20b-5p</i>	HSIL / NIC 2–3	↑	qPCR	Szekerczés <i>et al.</i> , 2020
<i>miR-515-5p</i>	HSIL / NIC 2–3	↓		Szekerczés <i>et al.</i> , 2020
<i>miR-212-5p</i>	HSIL / NIC 2–3	↓		Szekerczés <i>et al.</i> , 2020
<i>miR-218-5p</i>	HSIL/NIC**	↓	Microarray e qPCR	Zang <i>et al.</i> , 2015
<i>miR-21-5p</i>	HSIL/NIC	↑		Zang <i>et al.</i> , 2015
<i>miR-141-5p</i>	HSIL/NIC2/NIC3	↑	Microarray e qPCR	Kawai <i>et al.</i> , 2011
<i>miR-210-5p</i>	HG-NIC	↑	Microarray e qPCR	Ye <i>et al.</i> , 2019
<i>miR-205-5p</i>	NIC3	↑	qPCR	Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-130a-3p</i>	NIC3	↑		Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-3136-3p</i>	NIC3	↑		Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>let-7f-5p</i>	NIC3	↑		Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-202-3p</i>	NIC3	↑		Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-323a-5p</i>	NIC3	↑		Causin <i>et al.</i> , 2021
<i>miR-152-5p</i>	NIC1-2; NIC-3	↑	qPCR	Yang; Zhang, 2019
<i>miR-551b-5p</i>	NIC-1-3; NIC2-3	↑	qPCR	Lukic <i>et al.</i> , 2018
<i>miR-451a-5p</i>	HSIL/NIC2/NIC3	↑	Microarray e qPCR	Kawai <i>et al.</i> , 2018
<i>miR-144-3p</i>	HSIL/NIC2/NIC3	↑		Kawai <i>et al.</i> , 2018

*= Neoplasia Intraepitelial de alto grau. **= Intraepithelial Neoplasm off high degree. Fonte: Autores (2021).

Os 18 microRNAs envolvidos em lesões de alto grau, foram analisados pela ferramenta KEGG pathway. Os dados gerados revelaram que estes microRNAs regulam vias relacionadas com a carcinogênese, como a via dos proteoglicanos e a via de sinalização que regula a pluripotência de células-tronco, que quando alteradas podem participar do início da progressão do câncer (Tabela 4).

Tabela 4. Análise *in silico* das vias reguladas pelos microRNAs observados em neoplasias intraepiteliais de alto grau.

Vias	Gene alvos	P-value
Proteoglicanos no câncer	<i>FZD7, ESRI, BRAF, STAT3, FZD5, MET, ROCK1, CBL, SDC1, PIK3CB, PTCH1, ARHGEF12, PPP1CC, ROCK2, FRS2, TIAMI, EGFR, PPP1R12B, CAV2, FZD3, RRAS2, ANK2, COL21A1, ANK3, FZD4, TFAP4, CASP3, PTPN6, CCND1, FLNB, FLNA, ITPR1, SOS1, PRKX, DDX5, GABI, AKT3, SDC2, FNI, CDKN1A, HGF, MTOR, MAPK1, ERBB4</i>	0,001348141
Dependência de morfina	<i>PDE1C, GNGT1, ADRBK2, PDE8B, PDE1A, GABRB3, GNG10, GABRG1, KCNJ6, PRKCB, GABRA4, GABRB2, KCNJ3, GNG3</i>	0,001691284
Biossíntese de mucina tipo O-glicano	<i>GCNT4, GALNT6, GALNT1, GALNT2, C1GALT1, GALNT5, GALNT16</i>	0,003442114
Biossíntese de glicosfingolipídeos - séries lacto e neolacto	<i>B3GALT1, FUT1, ST3GAL6, FUT9, ST8SIA1</i>	0,00736287
Vias de sinalização que regulam a pluripotência de células-tronco	<i>FZD7, DVL3, STAT3, PAX6, SMAD2, NRAS, HOXB1, REST, ACVR1B, TBX3, HAND1, SMARCA1, IGF1R, FZD3, FZD4, RIF1, SMAD4, POU5F1, SKIL, SMAD5, ACVR2A, BMP2, ACVR1C, IGF1, NANOG, PIK3CA, IL6ST, DUSP9, MAPK1, PCGF3, JAK1, WNT9A, MEIS1, BMPR2</i>	0,009766015
Processamento de proteínas no retículo endoplasmático	<i>SARIA, SSR1, SARIB, EIF2AK3, ERO1L, YOD1, WFS1, SEC23A, DNAJC10, UBE2E2, UBE2J1, STT3B, CANX, EDEM3, UBQLN2, MANIA2, EIF2AK2, DERL2, MAPK9, MAN1C1, TUSC3, MAPK8, RNF185, SEC62, SEC24A, HSPA4L, BAG2, HSPA8, EIF2S1, UBE2D3, UBE2D1, UBE2D2, UBE2G1, MANIA1, DNAJA2, MARCH6, TRAM1, ERO1LB, MAP3K5</i>	0,01753664
Via de sinalização TGF-beta	<i>SMAD2, SMAD6, INHBB, PPP2CA, ACVR1B, SMURF2, BMPR1B, INHBA, CDKN2B, ACVR1, SKP1, ZFYVE16, SMAD4, E2F5, ZFYVE9, RBL1, SMAD5, MAPK3, BMP2, TGFB2, EP300, BAMBI, MAPK1, SMAD1, TGFB2, BMPR2, RPS6KB</i>	0,01037664

Fonte: Autores (2021).

4. Discussão

Neste trabalho, foi possível observar 22 microRNAs diferencialmente expressos. Quanto aos microRNAs observados em NICs de baixo grau, destacamos aqueles que apresentaram expressão reduzida, como o *miR-126-3p* e *miR-20b-5p* (Wang; Chein & Wu, 2017). No tocante ao *miR-126-3p*, a expressão deste microRNA foi observada de forma reduzida em câncer de pulmão. E em relação ao *miR-20b-5p*, um estudo realizado por Li *et al* (2021), mostrou que este microRNA promove a proliferação, migração e invasão das células do carcinoma hepatocelular (CCH).

Dentre aqueles que atuam como supressores tumorais, destacam-se: *miR-212*, *miR-515-5p* e *miR-218-5p*. Quanto ao *miR-212-5p*, a expressão deste microRNAs foi observada de forma reduzida em NICs de alto grau, e quando a sua expressão é ativada, este microRNA atua na inibição da migração celular, invasão celular e TEM (Transição epitélio-mesenquimal) através da sinalização de SOX4 (Fator 4 de Transcrição SRY-Box), conforme observado em câncer de pulmão de não-pequenas células (Tang *et al.*, 2017).

O estudo realizado por Zhou *et al* (2017), demonstrou que o *miR-212* teve sua expressão de significativamente diminuída em tecidos e linhagens celulares de câncer de colo de útero. Além disso, observou-se também que a expressão deste microRNA quando aumentada pode suprimir a proliferação celular e a invasão de linhagens celulares de câncer cervical *in vitro*. Ao contrário, a diminuição da expressão de *miR-212* promove a proliferação celular e invasão de linhagens celulares de câncer cervical.

Huang *et al* (2019) também observaram que *miR-212-5p* pode ter como alvo DPYSL3 (Dihydropyrimidinase Like 3). Este gene codifica uma proteína de adesão celular presente em tumores de pulmão metastático. Outro exemplo do envolvimento de *miR-212-5p* em câncer, foi observado por Fang e colaboradores (2019) o qual verificaram a expressão gênica de 433 pacientes com carcinoma hepatocelular, o estudo mostrou que os genes regulados pelo *miR-212-5p* foram altamente expressos na via relacionada ao p53.

Quanto ao *miR-515-5p*, por sua vez, a expressão deste microRNA foi observada de forma reduzida em tecidos de câncer de próstata em comparação com tecidos prostáticos normais adjacentes, e em linhagem de células epiteliais de próstata normais (Zhang *et al.*, 2019). A expressão *miR-218-5p* também foi reduzida em tecido ósseo metastático de câncer de próstata e amostras de soro, o qual foi correlacionado positivamente com diagnóstico mais avançado e menor sobrevida livre de metástase óssea (Peng *et al.*, 2019).

Além dos microRNAs supracitados, destacam-se também aqueles que apresentaram expressão elevada, como: *miRNA-20a-5p* e *miR-20b-5p*. A expressão aberrante de *miR-20a-5p* foi relatada em carcinoma de mama humano. Particularmente, no câncer de mama triplo-negativo (CMTN), *miR-20a-5p* foi altamente expresso tanto em tecidos CMTN quanto em linhagens celulares (Bai *et al.*, 2018), e a de *miR-20b-5p* foi significativamente associada a uma série de casos de pacientes com câncer colorretal (CCR) metastático. Os níveis basais circulantes de *miR-20b-5p* foram significativamente associados a sobrevida livre de progressão, o que destaca a utilidade potencial dos níveis basais circulantes de *miR-20b-5p*, na previsão do resultado de pacientes com mCCR (Câncer Colorretal Metastático) (Uliv *et al.*, 2018).

Este trabalho também objetivou investigar os genes regulados pelos microRNAs identificados, os microRNAs selecionados neste trabalho regulam importantes vias, como a via dos Proteoglicanos. Esta via quando alterada pode participar do início da progressão do câncer, em especial em linhagens celulares de câncer colorretal e hepático, estando envolvida também em câncer de próstata e mama (Theocharis *et al.*, 2015; Piperigkou *et al.*, 2016).

Em relação a via de Actina no Citoesqueleto, a estrutura e organização desta via encontra-se associada com diversos eventos de regulação e diferenciação celular e que podem desencadear a formação de neoplasia e progressão da capacidade de invasão (metástase) das células cancerosas no organismo. Além de estar envolvida na sensibilização de glioblastoma, quando exposto a radiação ionizante. Sobre esta via, não existem muitos estudos que relacionem diretamente o citoesqueleto com vias de reparo de DNA, mas estudos preliminares demonstraram que a desestabilização do citoesqueleto de actina provoca a sensibilização de glioblastomas à radiação ionizante (Albernaz, 2019).

A via Biossíntese de glicosfingolipídios - séries lacto e neolacto atuam como receptores primários para patógenos humanos e também estão cada vez mais associados com o câncer de ovário, quanto a expressão desta via, foi observada uma

alta expressão em linhagens celulares de câncer de ovário, quando comparadas a linhagens celulares normais. Além disso, são também consideradas alvos ideais para imunoterapia de tumor cerebral (Alarm *et al.*, 2017).

Uma outra via de sinalização é a de células-tronco cancerosas, as quais foram identificadas pela primeira vez na leucemia, e desde então, elas têm sido consideradas importantes alvos terapêuticos promissores para a terapia do câncer (Yang *et al.*, 2020). Esses tipos de células influenciam a progressão tumoral, sendo capazes de estimular a proliferação de células de glioblastoma humano (GBM). Além disso, quando em contato direto célula-célula com células GBM, desencadeiam um aumento do comportamento proliferativo e invasivo de células tumorais (Rodini *et al.*, 2018).

A via do retículo endoplasmático (RE) é uma estrutura que desempenha muitas funções na célula, incluindo armazenamento de cálcio, síntese de proteínas e metabolismo de lipídios (Scwarz & Blower, 2016; Aokes & Papa, 2015). Atualmente, a via do RE em comparação com outros alvos subcelulares, não é bem documentada como um alvo para agentes anticâncer devido ao seu complexo papel de sinalização celular. Mas, é considerada promissora como agente anticâncer para as próximas gerações, devido ao seu mecanismo de dobramento de proteínas do RE, vias mitocondriais e morte celular (Bennerjee & Zhang, 2018).

A via de sinalização TGF-beta representa uma família evolutivamente conservada de fatores polipeptídicos secretados que regulam muitos aspectos da embriogênese fisiológica e da homeostase do tecido adulto e encontra-se desregulada em muitas doenças, incluindo o câncer (Tzavlaki & Moustakas, 2020). Esta via tem funções supressoras de tumor, incluindo parada celular e apoptose. No entanto, sua ativação no câncer em estágio avançado pode promover a metástases e quimiorresistência (Colak & Dijke, 2017).

5. Conclusão

O presente trabalho apresentou uma busca na literatura dos microRNAs associados a lesões intraepiteliais cervicais de baixo grau e alto grau, e a relação entre seus genes alvo e processos biológicos ligados a carcinogênese através de ferramentas de bioinformática, os dados revelam a desregulação destas biomoléculas em amostras pré-malignas e a relação destes microRNAs em vias que comumente estão desregulados em câncer.

Foi demonstrado 22 microRNAs diferencialmente expressos, destacando-se aqueles que atuam como supressores tumorais, como o *miR-212*, *miR-515-5p* e *miR-218-5p*. Demonstrou-se também a relação entre os grupos de genes alvo dos microRNAs em questão e processos biológicos relacionados ao desenvolvimento do câncer como a via dos Proteoglicanos, Biossíntese de glicosfingolipídios - séries lacto e neolacto, via de sinalização de células tronco e via de sinalização TGF-beta.

Apesar das limitações deste estudo, é evidente que essas informações podem ajudar a elucidar os mecanismos moleculares em lesões pré-malignas, assim como auxiliar na identificação de biomarcadores moleculares como método para diagnóstico precoce da doença. No entanto, faz-se necessários mais estudos que colaborem com a comunidade científica no intuito de contribuir para a compreensão sobre os mecanismos de vários processos biológicos na qual os microRNAs estão envolvidos.

Referências

- Acunzo, M., Romano, G., Wernicke, D., & Croce, C. M. (2015). MicroRNA and cancer--a brief overview. *Advances in Biological Regulation - Journals - Elsevier*, 57, 1-9. [10.1016/j.jbior.2014.09.013](https://doi.org/10.1016/j.jbior.2014.09.013).
- Alarm, S., Anugraham, M., Huang, Y., Kohler, R.S., Hettich, T., Winkelbach, K., Grether, Y., López, M. N., Khasbiulina, N., Bovin, N. Schlotterbeck, G., & Jacob, F. (2017). Altered (neo-) lacto series glycolipid biosynthesis impairs α -2-6 sialylation on N-glycoproteins in ovarian cancer cells. *Scientific Reports*, 30 (7), 45367.[doi.10.1038/srep45367](https://doi.org/10.1038/srep45367).

- Albernaz, D. D. P. Modulação da Expressão e da Síntese de Actina por Citrato de Ródio II em Células de Câncer Mamário. Brasília. Dissertação- (Mestrado em Nanociência e Nanobiotecnologia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2019.
- Aokes, S. O & Papa, F.R. (2015). The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 10, 173-94. 10.1146/annurev-pathol-012513-104649.
- Bai, X., Han, G., Liu, Y., Jiang, H., & He, Q. (2018). MiRNA-20a-5p promotes the growth of triple-negative breast cancer cells through targeting RUNX3. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, 1482-1489. 10.1016/j.biopha.2018.04.165.
- Bennerjee, S. & Zhang, W. (2018). Endoplasmic Reticulum: Target for Next-Generation Cancer Therapy. *Chembiochem*, 16(19), 2341-2343. 10.1002/cbic.201800461.
- Castle, F.E., Murokora, D., Perez, C., Alvarez, M., Quek, S. C., & Champbel, C. (2017). Treatment of cervical intraepithelial lesions. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 138 (1), 20-25. 10.1002/ijgo.12191.
- Cohen, P. A., Jhingran, A., Oaknin, A., & Denny, L. (2019). Cervical cancer. *Lanceta*, 393 (10167), 169-182. 10.1016/S0140-6736(18)32470-X.
- Colak, S. & Dijke, P.T. (2017). Targeting TGF- β Signaling in Cancer. *Trends in Cancer: Cell Press*, 3(1), 56-71. 10.1016/j.trecan.2016.11.008
- Fang, S., Guo, J., Zhang, J., Liu, J., Hong, S., Yu, B., Gao, Y., Hu, S., Liu, H., Sun, L., & Zhao, Y. (2020). A P53-related microRNA model for predicting the prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *Journal of Cellular Physiology*, 235 (4), 3569-3578. 10.1002/jcp.29245.
- Huang, J., Jiang, W., Tong, X., Zhang, L., Zhang, Y., & Fan, H. (2019). Identification of gene and microRNA changes in response to smoking in human airway epithelium by bioinformatics analyses. *Medicine (Baltimore)*, 98 (38), 17267. 10.1097/MD.00000000000017267.
- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2020.
- Jiang, Y., Hu, Z., Zuo, Z., Li, Y., Pu, F., Wang, B., Tang, Y., Guo, Y., & Tao, H. (2020). Identification of Circulating MicroRNAs as a Promising Diagnostic Biomarker for Cervical Intraepithelial Neoplasia and Early Cancer: A Meta-Analysis. *BioMed Research International*, 2020, 1-14. 10.1155/2020/4947381.
- Johnson, C. A., James, D., Marzan, A., & Armaos, M. (2019). Cervical Cancer: An Overview of Pathophysiology and Management. *Elsevier*, 35, 166-174. 10.1016/j.soncn.2019.02.003.
- Li, Z., Wu, L., Tan, W., Zhang, K., Lin, Q., Zhu, J., Tu, C., Lv, X., & Jiang, C. (2021). MiR-20b-5p promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation, migration and invasion by down-regulating CPEB3. *Annals of Hepatology*. v.23(100345). 10.1016/j.aohep.2021.100345.
- Organização das Nações Unidas. Mês de Conscientização do Câncer Cervical: OMS diz que doença pode ser eliminada/ Nações Unidas. - Brasília: ONU, 2020.
- Pardini, B., De Maria, D., Francavilla, A., Di Caetano, C., Ronco, G., & Naccarati, A. (2018). MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review. *BMC Cancer*, 18(1), 696. 10.1186/s12885-018-4590-4.
- Peng, P., Chen, T., Wang, Q., Zhang, Y., Zhang, F., Huang, S., Tang, Y., Yang, C., Ding, W., Ren, D., Huang, Z., & Guo, Y. (2019). Decreased miR-218-5p Levels as a Serum Biomarker in Bone Metastasis of Prostate Cancer. *Oncology Research and Treatment*, 42, 165-180. 10.1159/000495473.
- Piperigkou, Z., Mohr, B., Karamanos, N., & Gotte, M. (2016). Shed proteoglycans in tumor stroma. *Cell and Tissue Research*, 365(3), 643-55. 10.1007/s00441-016-2452-4.
- Rodini, C. L., Da Silva, P. B. C., Assoni, A. F., Carvalho, V.M., & Okamoto, O.K. (2018). Mesenchymal stem cells enhance tumorigenic properties of human glioblastoma through independent cell-cell communication mechanisms. *Oncotarget*, 15(37) 24766-24777. 10.18632/oncotarget.25346.
- Santesso, N., Mustafa, R. A., Wiercioch, W., Keah, R., Gandhi, S., Chen, Y., Cheung, A., Hopkins, J., Khatibs, R., Ma, B., Mustafa, A. A., Lloyd, N., Wu, D., Broutet, N., & Schunemann, H. J. (2015). Systematic reviews and meta-analyses of benefits and harms of cryotherapy, LEEP, and cold knife conization to treat cervical intraepithelial neoplasia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 32 (3), 266-71. 10.1016/j.ijgo.2015.07.026.
- Schwarz, D. S., & Blower, M. D. (2016). The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73 (1), 79-94. 10.1007/s00018-015-2052-6.
- Shen, S., Zang, S., Liu, P., Wang, J., & Du, H. (2020). Potential role of microRNAs in the treatment and diagnosis of cervical cancer. *Elsevier*, 248, 25-30. doi.org/10.1016/j.cancergen.2020.09.003
- Stumbar, Sara E., Stevens, Maria, Feld, Z. (2018). Cervical Cancer and Its Precursors. *Elsevier*, 46(1), 117-134. 10.1002/1097-0142(19951115)76:10+<1902::aid-cnrcr2820761306>3.0.co;2-0.
- Thang, T., Huan, L., Zhang, S., Zhou, H., Gu, L., Chen, X., & Zhang, L. (2017). MicroRNA-212 functions as a tumor-suppressor in human non-small cell lung cancer by targeting SOX4. *Oncology Reports*, 38(4), 2243-2250. 10.3892/or.2017.5885.
- Theocharis, A.D., Shandaelis, S. S., Neil, T., Mulhaupt, H.A., Hubo, M., Frey, H., Goplal, S., Gomes, A., Afratis, N., Lim, C.H., Coughman, J. R., Filmus, J., Sanderson, R. D., Shchaefer, L., Lizzo, R.V., & Karamanos, N.K. (2015). Insights into the key roles of proteoglycans in breast cancer biology and translational medicine. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1855 (2), 276-300. 10.1016/j.bbcan.2015.03.006.
- Tzavlaki, K., & Moustakas, A. (2020). TGF- β Signaling. *Biomolecules*, 10 (3), 487. 10.3390/biom10030487.

Uliv, P., Canale, M., Passardi, A., Marisi, G., Valgiust, M., Frassinetti, G.L., Calistri, D., Amadori, D., Scarpi, E. (2018). Circulating Plasma Levels of miR-20b, miR-29b and miR-155 as Predictors of Bevacizumab Efficacy in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 1, 307. 10.3390/ijms19010307.

Wang, K., Chen, M., & Wu, W. (2017). Analysis of microRNA (miRNA) expression profiles reveals 11 key biomarkers associated with non-small cell lung cancer. *Journal Of Surgical Oncology*, 15, 175. 10.1186/s12957-017-1244-y.

Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., Zhang, G., Wang, X., Dong, Z., Chen, F., & Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy - Nature*, 7,5 (1), 8.10.1038/s41392-020-0110-5.

Zhang, X., Zhou, J., Xue, D., Li, Z., Liu, Y., & Dong, L. (2019). MiR-515-5p acts as a tumor suppressor via targeting TRIP13 in prostate cancer. *International Journal of Biological Macromolecules*. 15(129), 227-232. 10.1016/j.ijbiomac.2019.01.127.

Zhou, C., Tan, D., Chen, L., Xu, X., Sun, C., Zong, L., Han, S., & Zhang, Y. (2017). Effect of miR-212 targeting TCF7L2 on the proliferation and metastasis of cervical cancer. *European Review for medical and Pharmacological Sciences*, 21(2), 219-226.