

Utilização dos microRNAs no direcionamento da terapia e na avaliação da resposta ao tratamento do câncer colorretal

Use of microRNAs in directing therapy and evaluating treatment response in colorectal cancer

Silmara Cristiane da Silveira Andreoli¹, Nina Jardim Gasparini¹, Gisele Pereira de Carvalho², Bernardo Garicochea³, Robert Edward Pogue¹, Rosângela Vieira de Andrade¹

RESUMO

O câncer colorretal é o terceiro tipo de câncer mais comum em todo o mundo. A sobrevivência e o prognóstico dependem do estágio do tumor no diagnóstico, momento em que, em mais de 50% dos casos, o tumor já invadiu tecidos adjacentes ou ocorreu metástase. Objetivando-se melhorar o diagnóstico, o prognóstico clínico e o tratamento de pacientes com câncer colorretal, vários estudos investigaram microRNAs como marcadores moleculares da doença, devido à sua função reguladora potencial sobre genes supressores de tumor e oncogenes. Esta revisão procura resumir os principais tópicos relacionados ao uso de microRNAs no diagnóstico, na determinação do prognóstico clínico e na avaliação de resposta ao tratamento do câncer colorretal.

Descritores: MicroRNAs; Marcadores biológicos; Neoplasias colorretais/quimioterapia; Resultado de tratamento; Terapia combinada

ABSTRACT

Colorectal cancer is the third most common cancer worldwide. Survival and prognosis depend on tumor stage upon diagnosis, and in more than 50% of cases, the tumor has already invaded adjacent tissues or metastasis has occurred. Aiming to improve diagnosis, clinical prognosis and treatment of patients with colorectal cancer, several studies have investigated microRNAs as molecular markers of the disease due to their potential regulatory functions on tumor suppressor genes and oncogenes. This review aimed to summarize the main topics related to the use of microRNAs in diagnosis, clinical prognosis and evaluating treatment response in colorectal cancer.

Keywords: MicroRNAs; Biological markers; Colorectal neoplasms/chemotherapy; Treatment outcome; Combined modality therapy

CÂNCER COLORRETAL

O papel da epigenética na carcinogênese, no caso do câncer colorretal (CCR), tem aberto um novo e estimulante campo de pesquisa para a medicina translacional. Dentre as muitas moléculas que podem interferir na expressão de genes, os RNAs de fitas longa e curta estão diretamente envolvidos com diversos níveis de regulação de proteína-DNA, que parece ser de extrema importância na carcinogênese colorretal. Dentre os tipos de RNAs de fita curta envolvidos na epigenética, os microRNAs (miRNA) estão entre os mais estudados até agora. Seu papel no desenvolvimento do câncer foi primeiramente sugerido por Calin et al.⁽¹⁾. Estudos subsequentes reforçaram esse novo paradigma desafiando a “cascata de carcinogênese de mutações em múltiplos passos”, proposta por Faeron e Vogelstein,⁽²⁾ enquanto, simultaneamente, introduziam novos alvos potenciais para diagnóstico, prevenção e tratamento.

MicroRNAs

MiRNAs surgem como um precursor de aproximadamente 70 nucleotídeos com estrutura característica, chamado de transcritor primário (pri-miRNA), transcrito pela RNA polimerase II. O Pri-miRNA é processado por um complexo que consiste das proteínas Drosha e Pasha (também conhecidas como DGCR8), localizadas no núcleo da célula. O resultado desse processamento – o miRNA (pre-miRNA) – é exportado do núcleo para o citoplasma e sofre um

¹ Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

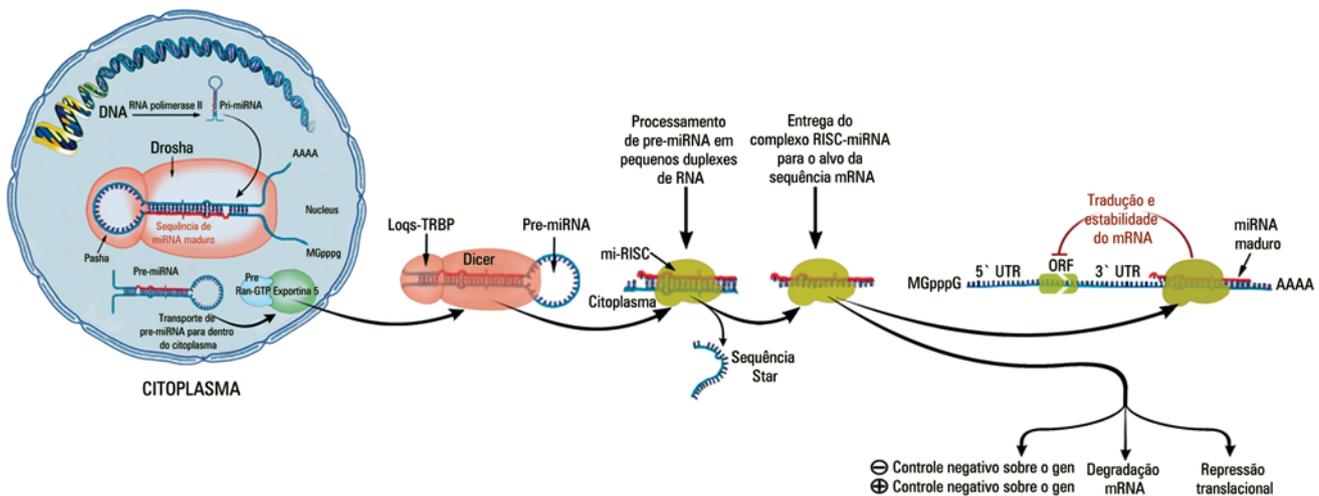
² Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Centro de Oncologia Sírio Libanês, São Paulo, SP, Brasil.

Autor correspondente: Rosângela Vieira de Andrade – Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia – Campus II SGAN 916 – Avenida W5 Norte – Asa Norte – CEP: 70790-160 Brasília, DF, Brasil – Tel.: (61) 3448-7268 – E-mail: rosangelavand@gmail.com

Data de recebimento: 26/4/2013 – Data de aceite: 11/12/2013

DOI: 10.1590/S1679-45082014MD2839



Fonte: Slack FJ, Weidhaas JB. MicroRNA in cancer prognosis. *N Engl J Med*. 2008;359(25):2720-2.

Figura 1. Mecanismos de maturação do microRNA

processo enzimático catalisado pela enzima Dicer, associada com um domínio de ligação de RNA de fita dupla, chamado Loqs-TRBP. Esse processo levará à remoção da alça *hairpin*, resultando em um miRNA de fita dupla, que se integrará no complexo silenciador induzido por RNA (RISC, sigla em inglês para *RNA-induced silencing complex*).⁽³⁾

O RISC é composto por um conjunto de proteínas, e a mais importante é a Argonaute (Ago). A composição das proteínas e o número de cópias de Ago dependem do complexo e da espécie.⁽³⁾ O produto de fita dupla do processamento pelo Dicer entra na via de RISC, resultando na eliminação de uma das fitas, deixando o miRNA de uma fita maduro, associado à proteína efetora Ago, como mostrado na figura 1. Embora a correspondência de bases entre o miRNA e o mRNA seja mais extensa em plantas, a sequência central (*core*) com os nucleotídeos 2-8 parece determinar as consequências em animais, com um pareamento perfeito que guia o mRNA em direção à degradação, e uma correspondência de menos de 100% causa uma inibição da tradução.⁽⁴⁾ A clivagem é mediada por meio da proteína Ago, mas os detalhes do processo ainda não estão elucidados. Ademais, ainda não se sabe se uma repressão da transcrição mediada por uma correspondência imperfeita ocorre na iniciação ou pós-iniciação da translação, e há estudos que apontam para ambos.⁽⁵⁾

QUIMIO-RADIOTERAPIA COM CAPECITABINA

Uma das poucas avaliações da expressão de miRNA em humanos como resposta à quimioterapia foi feita em relação à quimio-radioterapia com capecitabina (um precursor do 5-fluorouracil) em pacientes com adenocarcinoma retal nos estágios II-III, segundo a

metodologia de estadiamento de câncer do *Union for International Cancer Control* (UICC), sem metástases distantes. Nove miRNAs (miR-145, miR-339, miR-212, miR-125b, miR-137, miR-10a, miR-361, miR-213 e miR-31) foram avaliados após 2 semanas de terapia.⁽⁶⁾

Apenas miR-125b e miR-137 demonstraram um padrão consistente na maioria dos tumores, demonstrando uma indução significativa para a maior parte dos pacientes após a quimioterapia. Esse estudo relacionou níveis aumentados desses miRNAs a um resultado terapêutico ruim, já que se considera que miR-125b esteja envolvido nos processos de proliferação e manutenção celulares, e miR-137 está discretamente superexpresso em estágios mais avançados de CCR.⁽⁶⁾

OXALIPLATINA

Um estudo que correlacionava a resposta clínica a *doublets*, que incluíam a oxaliplatina como tratamento de primeira linha para CCR metastático com expressão de miRNA, identificou a alta expressão de miR-625-3p, miR-181b e miR-27b como associada a pior resposta clínica.⁽⁷⁾ Há falta de estudos com irinotecan e expressão de miRNA, mas um pequeno estudo⁽⁸⁾ que examinou a significância funcional de miR-18a em uma busca *in silico* mostrou quebras de DNA (um mecanismo de morte celular induzida pelo irinotecan) por meio da supressão direta de ATM, uma enzima vital na reparação de dano a DNA.

RESVERATROL

Uma droga que está no estágio de estudos pré-clínicos para a prevenção do câncer, chamada resveratrol (trans-

3,40,5-trihidroxiestilbeno), foi associada a alterações no padrão de expressão do miRNA.

O estudo observou o efeito de resveratrol na linhagem SW480 de câncer de cólon humano e demonstrou que o tratamento com essa droga diminui os níveis de genes que têm como alvo miRNAs oncogênicos que codificam os efetores principais da via de sinalização do fator de transformação do crescimento beta (TGF- β , sigla do inglês *transforming growth factor beta*) e fatores de supressão de tumor, como PTEN e PDCD4, assim como Dicer-1, que é responsável por catalisar o processo enzimático que transforma pré-miRNA em miRNA maduro.⁽⁹⁾

O resveratrol é também capaz de aumentar os níveis de miR-663, um miRNA supressor de tumor que tem como alvo os transcriptos de TGF- β 1. Os resultados desse estudo indicam que já que é possível manipular os níveis de importantes miRNAs, como miR-663. O resveratrol poderia ter seus efeitos antimetastático e anticancerígeno aumentados.⁽⁹⁾

CONCLUSÃO

Dados acumulados sobre os níveis de expressão de microRNA em tumores e seu alto grau de envolvimento no desenvolvimento e no progresso do câncer identificam essas moléculas como candidatas promissoras para orientar o tratamento do câncer, e também para a previsão dos resultados da quimioterapia. Isso é possível graças às atividades de microRNAs em relação à expressão de proteínas codificadas por oncogenes. O grande número de microRNAs no genoma humano e a abundância de mRNAs controlados por essas moléculas sugerem ampla gama de possibilidades oferecidas pelos padrões de expressão de microRNAs.

Essa análise de microRNA pode ser uma ferramenta promissora para determinar a sensibilidade de tumores

à quimioterapia e também quais pacientes necessitariam de um agente mais agressivo no início da terapia. Entretanto, a maior parte dos dados disponíveis sobre mudanças nos perfis de expressão de microRNA são limitados, já que consideram informações das linhagens celulares do câncer colorretal. Assim, podemos ressaltar a importância de mais estudos *in vivo*, com um número maior de pacientes, para poder estabelecer os padrões de expressão de microRNA necessários para prever com maior acurácia a melhor estratégia de tratamento, tornando os biomarcadores de microRNA de grande importância na prática clínica.

REFERÊNCIAS

1. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-9.
2. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61(5):759-67.
3. Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of microRNAs and siRNAs. *Cell*. 2009;136(4):642-55.
4. Filipowicz W, Jaskiewicz L, Kolb FA, Pillai RS. Post-transcriptional gene silencing by siRNAs and miRNAs. *Curr Opin Struct Biol*. 2005;15(3):331-41.
5. Su H, Meng S, Lu Y, Trombly MI, Chen J, Lin C, et al. Mammalian hyperplastic discs homolog EDD regulates miRNA-mediated gene silencing. *Mol Cell*. 2011;43(1):97-109.
6. Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, et al. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA*. 2008;299(4):425-36.
7. Rasmussen MH, Jensen NF, Tarpgaard LS, Qvortrup C, Rømer MU, Stenvang J, et al. High expression of microRNA-625-3p is associated with poor response to first-line oxaliplatin based treatment of metastatic colorectal cancer. *Mol Oncol*. 2013;7(3):637-46.
8. Wu CW, Dong YJ, Liang QY, He XQ, Ng SS, Chan FK, et al. MicroRNA-18a attenuates DNA damage repair through suppressing the expression of ataxia telangiectasia mutated in colorectal cancer. *PLoS One*. 2013;8(2):e57036.
9. Tili E, Michaille JJ, Alder H, Volinia S, Delmas D, Latruffe N, et al. Resveratrol modulates the levels of microRNAs targeting genes encoding tumor-suppressors and effectors of TGF β signaling pathway in SW480 cells. *Biochem Pharmacol*. 2010;80:(12):2057-65.