

## MicroRNAs como Biomarcadores de Diagnóstico do Câncer de Próstata

Autor: Virgínia de Castilhos  
Orientador: Ilma Simoni Brum da Silva

### Introdução

Atualmente, o diagnóstico de câncer de próstata (PCa) é baseado na detecção sorológica do antígeno prostático específico (PSA) e exame de toque retal (TR), sendo confirmada a presença de câncer pela biópsia prostática. Entretanto, os exames de PSA e TR são métodos limitados pelo baixo valor preditivo, gerando a necessidade da descoberta de novos biomarcadores na área diagnóstica de PCa.

Os miRNAs são moléculas consideradas potenciais biomarcadores para muitas doenças, incluindo o câncer, pois a expressão dos miRNAs se encontra alterada em células tumorais, quando comparada às células saudáveis. Além disso, a descoberta da presença de miRNAs circulantes em diversos espécimes clínicos, tais como sangue e urina, propiciou a investigação destas moléculas como biomarcadores não-invasivos e com potencial diagnóstico no câncer de próstata.

### Objetivos

Identificar biomarcadores moleculares (miRNAs) diferentemente expressos em pacientes com câncer de próstata no plasma, urina e tecido prostático.

### Métodos

Foram incluídos neste estudo 70 indivíduos do sexo masculino atendidos no Serviço de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre com indicação de realização do exame de biópsia prostática. Para cada paciente foram coletadas 03 amostras biológicas: sangue, urina e tecido prostático. As amostras foram agrupadas em dois grupos, conforme resultado do exame de biópsia de próstata: grupo dos pacientes com PCa (biópsia positiva para PCa) e grupo controle (pacientes com biópsia negativa para PCa). Para detecção e quantificação dos miRNAs nos diferentes espécimes clínicos foi utilizada a técnica de PCR em tempo real, através do Sistema *TaqMan Advanced miRNA (Thermo Fisher Scientific)*, na qual emprega cartões comerciais de PCR capazes de detectar até 384 miRNAs. Para análise dos resultados foi utilizado o software *Thermo Fisher Cloud*. Associado ao experimento quantitativo foi realizada uma busca na literatura científica pelos miRNAs mais diferentemente expressos, através de artigos de revisão publicados no PubMed até setembro de 2017, utilizando os descritores *miRNA prostate cancer review*.

### Resultados

A primeira fase do estudo foi caracterizada pela descoberta dos miRNAs mais diferentemente expressos em uma amostra de tecido com PCa e uma amostra controle. Dos 384 miRNAs pesquisados, 304 alvos apresentaram diferença de expressão, sendo 272 miRNAs com diferença de expressão de até 3 Cts (ciclos de *threshold*). A fig 1 representa o gráfico de amplificação da amostra controle e a fig. 2 da amostra com Pca:

Figura 1: microRNAs tecido controle

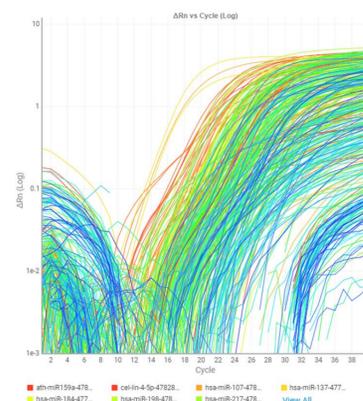
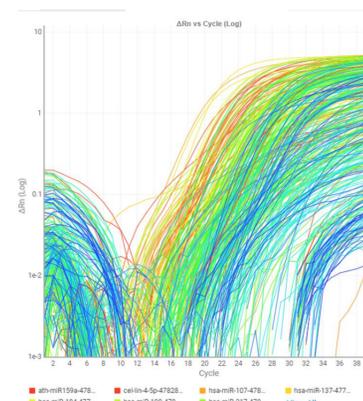


Figura 2: microRNAs tecido com PCa



Como critérios de seleção foram selecionados todos os miRNAs que apresentaram amplificação somente em uma das amostras (15 miRNAs) e todos os miRNAs que apresentaram diferença de expressão de no mínimo 5 Cts (ciclos de *threshold*) entre as amostras testadas, somando mais 15 miRNAs (por ex., fig. 3). Na base de dados do PubMed foram selecionados 269 artigos científicos de revisão para análise, sendo 21 miRNAs avaliados e selecionados como candidatos a biomarcadores de PCa mais diferentemente expressos.

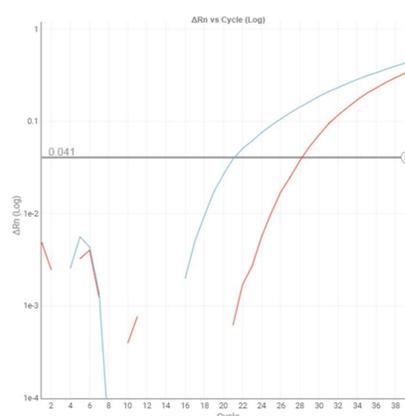


Figura 3: Gráfico de amplificação do microRNA 654-5p. Em vermelho, amostra de tecido com câncer de próstata (Ct = 28,2). Em azul, amostra controle (Ct = 21,2).

### Conclusões

Dos 51 miRNAs selecionados nos ensaios moleculares e na base de dados do PubMed, 07 miRNAs foram encontrados em ambas as etapas de seleção, o que totalizaram 44 alvos diferentes. Estes 44 miRNAs selecionados irão compor os cartões de PCR customizados de miRNAs que serão utilizados na próxima fase do estudo, caracterizada pela pesquisa destes alvos nas demais amostras clínicas. O objetivo da próxima fase do estudo é buscar dentre os 44 miRNAs, os alvos mais diferentemente expressos no PCa que possam ser utilizados como biomarcadores de diagnóstico molecular.