

PAPEL DO MICRORNA NA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A ONCOGÊNESE: BIOMARCADORES PARA LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Alexandra Karla Soares de Morais¹

Ana Paula Rocha da Costa²

Biomedicina



ISSN IMPRESSO 1980-1785

ISSN ELETRÔNICO 2316-3143

RESUMO

Os micros RNA (miRNA) representam uma classe de RNA (ácido desoxirribonucleico) endógeno, não codificante, com aproximadamente 22 nucleotídeos. Essas moléculas estão relacionadas com o controle e regulação de diversos processos biológicos fundamentais, incluindo o desenvolvimento embrionário, a proliferação e diferenciação celular, apoptose, hematopoese e na gênese de tumores. A Leucemia mielóide aguda é caracterizada por um distúrbio clonal que leva a um acúmulo e aprisionamento de blastos mielóides na medula óssea e sangue, sendo o câncer hematológico mais incidente em adultos. O mecanismo patológico da LMA pode ser explicado em grande parte por aberrações citogenéticas, mutações adquiridas e alterações epigenéticas. Os miRNAs atuam na regulação epigenética pós-transcricional e vários estudos catalogaram assinaturas de miRNA específicas na LMA. Nessa revisão foi realizada uma investigação sistemática, através de levantamento bibliográfico para ampliação do conhecimento e compreensão do tema. Foram incluídos artigos escritos em inglês, indexados no período entre 2012 e 2016, por amostra de tipo intencional. O objetivo dessa revisão é conhecer a relação dos miRNAs com a regulação da expressão gênica e sua influência na oncogênese da LMA, observando os perfis de expressão diferencial de miRNAs circulantes e sua importância no diagnóstico das LMA. A compreensão desses processos pode abrir caminho para conduta terapêutica adequada melhorando o prognóstico e a sobrevivência dos pacientes acometidos por esse câncer.

PALAVRAS-CHAVE

MicroRNA. Biomarcador. Oncogênese. Leucemia mielóide aguda.

ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) represent an endogenous, non-coding class of RNAs (deoxyribonucleic acid) with approximately 22 nucleotides. Such molecules are related to the control and regulation of several fundamental biological processes, including embryonic development, cell proliferation and differentiation, apoptosis, hematopoiesis and the genesis of tumors. Acute myeloid leukemia is characterized by a clonal disorder that leads to an accumulation and entrapment of myeloid blasts in the bone marrow and blood, being the hematologic cancer most incident in adults. The pathological mechanism of AML can be explained largely by cytogenetic aberrations, acquired mutations and epigenetic alterations. The miRNAs act on post-transcriptional epigenetic regulation and several studies have cataloged specific miRNA signatures in AML. This review carried out a systematic investigation, through a bibliographical survey to increase the knowledge and understanding of the theme. Articles written in English, indexed in the period between 2012 and 2016 were included by sample of intentional type. The objective of this review is to know the relation regarding miRNAs and the regulation of gene expression and its influence on AML oncogenesis, observing the differential expression profiles of circulating miRNA and its importance in the diagnosis of AML. The understanding of such processes can pave the way for an adequate therapeutic conduct improving the prognosis and survival rate of patients affected by this cancer.

KEYWORDS

MicroRNA. Biomarker. Oncogenesis. Acute Myeloid Leukemia

1 INTRODUÇÃO

Os microRNAs – miRNAs, representam uma classe de RNA (ácido ribonucleico) endógeno, não codificante, derivado de um RNA longo, que após ser clivado fica com aproximadamente 22 nucleotídeos. Os miRNA são provavelmente originadas de regiões do ácido desoxirribonucleico (DNA) que não codificam proteínas chamadas íntrons. Essas moléculas desempenham um papel significativo em todas as vias biológicas de organismos vivos, sendo importantes reguladores da expressão gênica. Até 2014 já haviam sido identificados e catalogados em bancos de dados mais de 2500 miRNAs humanos, que provavelmente regulam cerca de 60% dos genes codificantes (DZIKIEWICZ-KRAWCZYK *et al.*, 2014).

Os miRNAs estão relacionados com o controle e regulação de diversos processos biológicos fundamentais, incluindo o desenvolvimento embrionário, a proliferação e diferenciação celular, a apoptose, na hematopoese e na gênese de tumores. A expressão desregulada dessas moléculas pode ter um impacto significativo no desenvolvimento de diversas doenças, como os cânceres, doenças degenerativas reumáticas e doenças inflamatórias. Esse impacto é relevante visto que, um único miRNA

pode atuar em vários alvos de uma mesma via biológica, assim como vários miRNA podem atuar em apenas uma única via de controle celular (HIGGS; SLACK, 2013).

Nos últimos anos, identificou-se uma grande quantidade de miRNAs tanto oncogênicos como supressores de tumor. Os miRNAs oncogênicos são classificados como oncomiRs e funcionam como facilitadores do desenvolvimento tumoral. O surgimento do câncer pode estar sendo influenciado por alterações genéticas em genes codificadores de proteínas e também por alterações epigenéticas. As alterações epigenéticas mediadas pelos miRNAs caracterizam-se por alterações a nível pós-transcricional, ou seja, inibição da tradução do RNA mensageiro (mRNA) e conseqüentemente, inibindo a expressão de uma proteína específica sem que haja alterações genômicas (RÖHR *et al.*, 2013).

Cerca de 50% dos miRNAs humanos catalogados estão localizados em regiões genômicas associadas ao câncer. Alterações em diversos componentes da maquinaria de processamento dessas moléculas promovem a transformação celular e são responsáveis pela oncogênese, reforçando o conceito de que os miRNAs desempenham um papel crucial na progressão do câncer (ARDILA-MOLANO; VIZCAÍNO; SERRANO, 2015; DONG *et al.*, 2016).

Mutações nos miRNA são comuns e podem ter importância na oncogênese, essas moléculas desempenham papel importante nos mecanismos reguladores da diferenciação de células hematopoiéticas por meio da modulação da expressão de oncogêneses ou supressores de tumor. A desregulação de miRNA supressor de tumor pode resultar no desenvolvimento de diversos cânceres hematológicos, incluindo a leucemia mielóide aguda (LMA) (LI *et al.*, 2013).

A LMA é um dos cânceres hematológicos mais incidentes em adultos, é caracterizada por um distúrbio clonal que leva a um acúmulo e aprisionamento de blastos mielóides na medula óssea e sangue. De acordo com o sistema de classificação Franco-Americano-Britânico (FAB), LMA envolve a linhagem monocítica e a linhagem granulocítica que conta com oito (8) subtipos que vão de M0 a M7, sendo os subtipos de M1 a M5 responsáveis por 85% dos casos com prognósticos razoáveis e os subtipos M0, M6 e M7 de prognóstico reservado. Prognósticos favoráveis apresentam estimativa de sobrevivência dos pacientes acometidos em torno de cinco anos (WANG *et al.*, 2012; JIANG *et al.*, 2012; WALTER *et al.*, 2013; PING *et al.*, 2016).

A patogênese da LMA não está ainda totalmente elucidada, entretanto, o mecanismo patológico pode ser explicado em grande parte por aberrações citogenéticas, mutações adquiridas e alterações na regulação da expressão gênica mediadas por miRNAs. Vários estudos têm associado a presença de determinados miRNAs na circulação de pacientes acometidos com o prognóstico e a progressão da doença, bem como na resposta terapêutica (LIU; LI; CAIRNS, 2014; ZHI *et al.*, 2013; XU *et al.*, 2016).

Métodos não invasivos e fidedignos para a detecção precoce da LMA podem contribuir para melhor prognóstico dos pacientes acometidos por esse câncer. Recentemente, foi demonstrado que os miRNAs estão presentes no soro ou no plasma com padrões estáveis e reprodutíveis e podem ser úteis como biomarcadores para diagnóstico e avaliação de resposta terapêutica da LMA (LI *et al.*, 2013).

Conhecer a relação dos miRNAs com a regulação da expressão gênica e sua influência na oncogênese da LMA pode vir a elucidar os processos moleculares envolvidos nessa leucemia, dessa forma, contribuir para a superação de desafios diagnósticos, tornando-os mais precisos e permitindo uma conduta terapêutica direcionada a fim de melhorar o prognóstico e a sobrevivência dos pacientes (ALLEGRA *et al.*, 2012). Nota-se, portanto, que essa associação é relevante no sentido que essas moléculas podem futuramente indicar terapia adequada, além de serem alvos terapêuticos para o tratamento da LMA e diversos outros tipos de câncer e doenças.

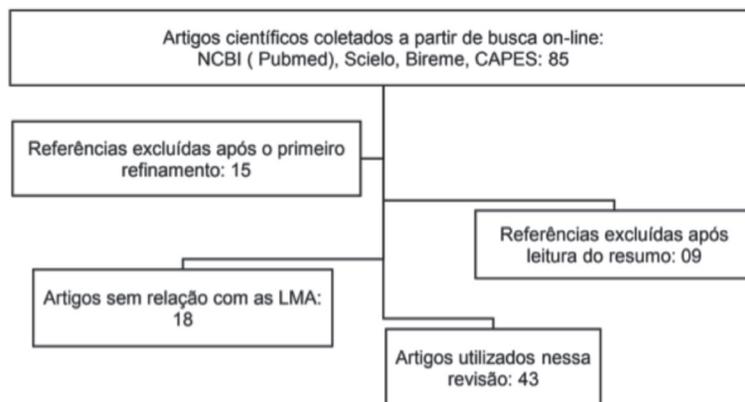
2 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foi realizada uma revisão sistemática, de caráter empírico e exploratório por meio do levantamento bibliográfico para ampliação e conhecimento do referido tema. Foram incluídos artigos de revisão bibliográfica e com delineamento experimental escritos em inglês, indexados no período entre 2012 e 2016, por amostra de tipo intencional (julgamento) com critérios decorrentes de conhecimento prévio do tema. As bases de dados utilizadas foram as seguintes: *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) - Pubmed, Scielo, Bireme.

Para a busca foram utilizados os seguintes termos livres em português e inglês: "micro RNA", "micro RNA e oncogênese", "biomarcador micro RNA", "micro RNA leucemia", "micro RNA nas leucemias mielóides agudas". Foram incluídos nesta revisão artigos que seguiram os seguintes parâmetros: estudos sobre as leucemias mielóides; trabalhos que tratam especificamente da relação dos micros RNA com a ocorrência da doença e trabalhos que comprovam a presença da alteração da expressão de miRNA na LMA. Também foram utilizados artigos que relacionam os miRNAs e o câncer. A síntese do processo de seleção de artigos encontra-se relacionada no fluxograma abaixo (FIGURA 1).

Os dados coletados foram utilizados exclusivamente para produção científica dentro dos preceitos éticos que orienta a compilação e produção de referências, respeitando o caráter exclusivamente científico.

Figura 1 – Fluxograma de seleção dos artigos científicos



Fonte: Os autores.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

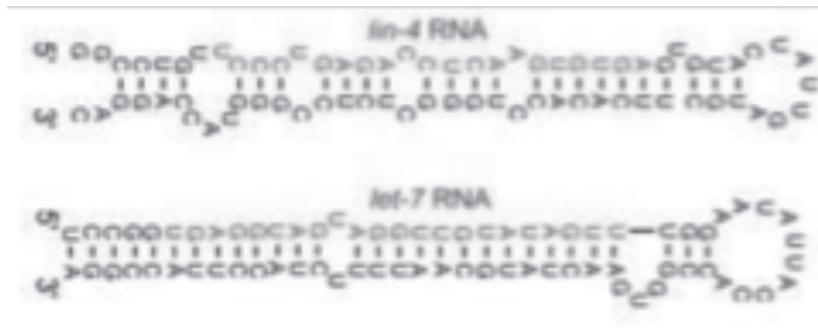
3.1 O miRNA e a Regulação Gênica

O mesmo DNA está presente em todas as células de um organismo, a estrutura e função do gene são praticamente constantes, portanto, é o padrão de expressão e a regulação gênica que tem influência nos mecanismos de controles e diferenciação celular. Processos biológicos derivados do genoma envolvem sistemas de controle mediados por moléculas de RNA específicas, essas moléculas estão associadas a estruturas proteicas, formando importantes complexos reguladores dos diversos sistemas biológicos (LIU; LI; CAIRNS, 2014).

O primeiro miRNA foi descoberto em 1993 por Rosalind Lee e outros autores nesse momento denominado de RNA não-codificante (ncRNA). Esse ncRNA era uma pequena molécula que tinha a função de controlar a expressão de genes codificantes da primeira fase larval do *Caenorhabditis elegans*. Esse ncRNA foi denominado de lin-4 e verificou-se que ele atuava regulando negativamente o nível de uma proteína específica da primeira fase larvar e, conseqüentemente, ocasionando uma diminuição da expressão gênica dessa proteína.

Após sete anos, Reinhart e outros autores no ano de 2000 demonstraram outro miRNA em *C. elegans*, o let-7, que junto com o lin-4 interagem com a região 3' não traduzida dos genes alvo. Em 2001, estudos identificaram os miRNAs em outros organismos inclusive em mamíferos. Essa descoberta incentivou novos estudos para descobrir a estrutura e função dos miRNAs (DONG *et al.*, 2016; AHMAD *et al.*, 2013; DI LEVA *et al.*, 2014) (FIGURA 2).

Figura 2 – miRNA *Caenorhabditis elegans* lin-4 e lin-7



Fonte: Adaptado de Bartel (2004).

Atualmente, sabe-se que essas pequenas moléculas são responsáveis pela regulação de mais de 60% dos genes humanos. Os miRNAs são pequenas moléculas de cadeia simples, não codificantes, com cerca de 20 a 22 nucleotídeos que regulam a expressão gênica pós-transcricional tendo como alvo um mRNA. O miRNA pode ser originado tanto de regiões intrônicas ou como de um gene codificador. A maioria dos miRNA são derivados da região dos íntrons, em menor proporção essas moléculas al-

guns podem ser originárias de regiões exônicas (DI LEVA *et al.*, 2014; KHALAJ *et al.*, 2014; BUENO *et al.*, 2011; ISMAIL *et al.*, 2014; ARTCIBASOVA *et al.*, 2016; XU *et al.*, 2016).

A interação dos miRNAs com genes alvos indica a importância vital dessas moléculas como reguladores dos diversos processos biológicos, do desenvolvimento celular e da homeostase. Os miRNAs regulam mRNAs alvo e promovem um controle preciso da expressão das proteínas. O descontrole desse mecanismo pode acarretar diversas doenças humanas como o câncer, distúrbios neurológicos, doenças degenerativas e autoimunes. Atualmente sabe-se que essas pequenas moléculas são responsáveis pela regulação de mais de 60% dos genes humanos (ZHI *et al.*, 2013). Importantes reguladores pós-transcricionais, os miRNAs atuam para inibir a expressão da proteína em seus alvos.

Transcritos pela RNA polimerase II a partir do genoma, essas moléculas não são traduzidas e têm a função de inibir a tradução de um mRNA alvo. Nesse mecanismo ocorre uma alteração da expressão gênica sem que ocorra alterações no material genético, portando denomina-se um mecanismo de regulação epigenético (HIGGS; SLACK, 2013; EBERT; SHARP, 2012). Os miRNAs interagem no mRNA alvo por meio da complementaridade de bases nitrogenadas a partir da região 3' não traduzida (3'UTR), essa região pode promover ou impedir a ligação de miRNA. Encurtamento no comprimento da região 3'UTR, pode ocasionar a perda de miRNA inibidor, levando a um aumento na heterogeneidade e plasticidade na população de células tumorais (DI LEVA, *et al.*, 2014).

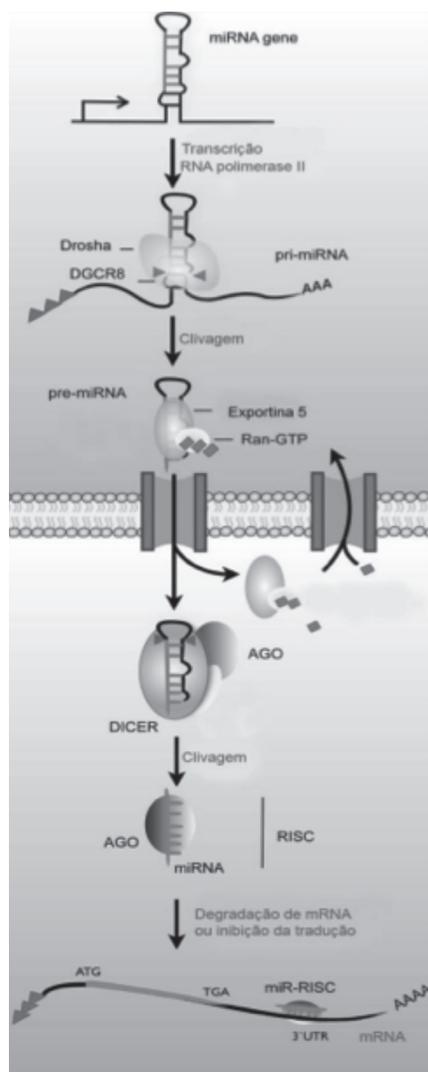
A inibição da tradução e da expressão gênica pode ocorrer por dois processos: pela formação de um complexo no mRNA alvo que irá impedir a tradução ou pela degradação completa do mRNA. A degradação do mRNA, foi considerada um importante mecanismo de regulação da expressão gênica em sistemas vegetais, enquanto que a inibição da tradução pelos miRNAs tem sido avaliado como um importante mecanismo para os sistemas animais. Fatores que determinam o destino da interação miRNA-mRNA são ainda pouco compreendidos, apesar de maior complementaridade entre miRNAs e seus alvos ser mais susceptível a desencadear a clivagem do mRNA do que a repressão da tradução (SCHOTTE; PIETERS; DENBOER, 2012; DAS *et al.*, 2015; DJURANOVIC; NAHVI; GREEN, 2013; CICCONE; ADRIAN, 2015)

3.2 BIOGÊNESE E PROCESSAMENTO DOS miRNAs

Os miRNAs são produzidos no núcleo pela ação da RNA polimerase II, dando origem aos miRNAs primários (pri-miRNA). Esses pri-miRNAs dobram-se e por complementaridade de bases e formam uma estrutura em grampo, dando uma conformação de dupla fita de RNA. Em uma nova etapa, ainda no núcleo, essa estrutura liga-se à enzima de processamento DROSHA associada ao seu co-fator, o DGCR8, que é uma proteína de ligação estabilizadora da DROSHA. Esse complexo cliva o pri-miRNA e dá origem ao precursor do miRNA (pré-miRNA) com aproximadamente 70 pares de bases. O pré-miRNA é então transportado para o citoplasma de forma ativa pela Exportina 5, em associação com uma proteína de transporte a RAN-GTP (DI LEVA *et al.*, 2014; GAZON *et al.*, 2016).

No citoplasma, o pré-miRNA passará por outro processamento, mediado pela enzima DICER, semelhante a uma RNase III, que reconhece o RNA longo de dupla fita e o cliva em um miRNA de fita dupla com aproximadamente 20 pares de bases. No citoplasma, após a clivagem pela DICER, o miRNA maduro será incorporado a outra proteína denominada Argonauta, formando um complexo de indução de silenciamento de RNA (RISC). O RISC é constituído em parte por enzimas helicases e proteínas argonautas, as quais promovem o desenovelamento do miRNA dúplice e a quebra das pontes de hidrogênio que unem as duas fitas. Desse modo, uma das fitas do dúplice pode então ser incorporada ao RISC como miRNA maduro que terá como alvo um mRNA, enquanto a outra fita do dúplice é degradada (LIU; LI; CAIRNS, 2014; REDDY, 2015) (FIGURA 3).

Figura 3 – Biogênese do miRNA

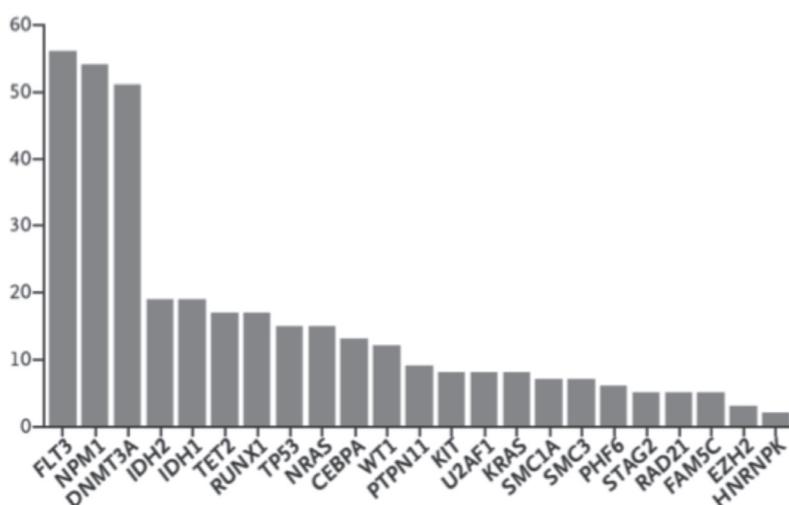


Fonte: Adaptado de Di Leva (2014).

3.3 O miRNA E A HEMATOPOESE: ONCOGÊNESE NA LMA

Estudo realizado por Ley e outros autores em 2013, identificou em pacientes com LMA mutações recorrentes em FLT3, NPM1, KIT, CEBPA, TET2, DNMT3A e IDH1. Outras mutações também foram observadas como a PML-RARA, RUNX1-RUNX1T1, nesse caso, os pacientes apresentaram resposta favorável ao tratamento. Os genes FLT3, NPM1, CEBPA, e KIT foram incorporados em classificações mais recentes e podem fornecer indicativo de prognóstico e resposta terapêutica. Neste estudo foi utilizado o teste do gene significativamente mutado (SMG) onde se identificou 23 genes com uma prevalência de mutação mais elevada do que o esperado (SHIH *et al.*, 2013; LEY *et al.*, 2013) (FIGURA 4).

Figura 4 – Genes mutados na LMA



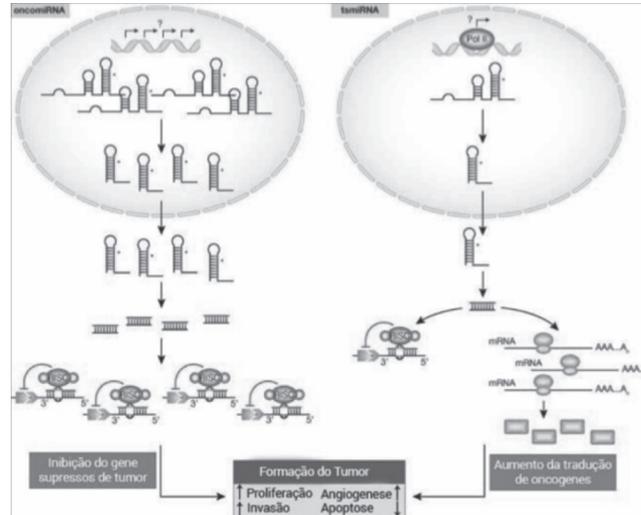
Fonte: Ley e outros autores (2013).

A LMA é um câncer heterogêneo, alterações genéticas estão envolvidas na leucemogênese, porém, não são suficientes para causar LMA. Outros acontecimentos oncogênicos contribuem para a transformação maligna hematopoiética completa. Além de aberrações cromossômicas, as leucemias podem apresentar anormalidades epigenéticas mediadas por miRNAs e hipermetilação aberrante de DNA. É provável que diferentes mutações, aberrações epigenéticas, ou anomalias na expressão dos miRNAs possam produzir a essa doença. Diferenças nas alterações moleculares podem ser responsáveis pela resposta muito variável à terapia na LMA e diferentes prognósticos da doença (DZIKIEWICZ-KRAWCZYK *et al.*, 2014; NOWEK *et al.*, 2016; ESTEY 2013; METZELER *et al.*, 2013).

Os miRNAs estão envolvidos na regulação da proliferação celular e no apoptose por meio do controle da expressão de genes supressores de tumor e oncogenes. Os miRNAs que desempenham função oncogênica são denominados de oncomiRNAs e os miRNAs que desempenham função supressora de tumor são denominados miRNA tumor supressor (tsmiRNA). A inibição do gene supressor de tumor ou aumento da

expressão dos oncogenes pode levar a um aumento da proliferação celular e inibição da apoptose e consequentemente a formação de tumor (LIU; LI; CAIRNS, 2014; ZHI *et al.*, 2013; ROMERO-CORDOBA *et al.*, 2014) (FIGURA 5).

Figura 5 – miRNA oncogênico e supressor de tumor



Fonte: Adaptado de Lorio e outros autores (2012).

Os miRNAs são responsáveis pelo ajuste fino do sistema hematopoiético e controlam as linhagens linfoides e mielóides do sangue. Na LMA, a expressão aberrante de miRNAs e seu impacto na resposta ao tratamento e no prognóstico, tem sido comprovada por diferentes estudos (MARCUCCI *et al.*, 2013; BUTRYM *et al.*, 2015; YEH; MOLES; NICOT, 2016; ZINI *et al.*, 2016). Ainda assim, os mecanismos moleculares envolvidos na patogênese da doença e que interferem na progressão da LMA ainda não foram totalmente elucidados. Modificações epigenéticas, como metilação do DNA, modificações de histonas e miRNAs também contribuem significativamente para a iniciação, progressão e prognóstico da LMA (CICCONE; ADRIAN, 2015; NOWEK *et al.*, 2016; SI *et al.*, 2016).

O envolvimento de miRNAs na regulação de várias vias de sinalização tem sido demonstrado em vários estudos, é relacionado com a evolução de perturbações hematopoiéticas. O processo de regulação do gene e mutações tanto na sequência de miRNAs como nos sítios alvo dos miRNAs têm uma contribuição significativa na manifestação da LMA, devido ao descontrole da regulação por complexos de silenciamento induzido por Mirna (DZIKIEWICZ-KRAWCZYK *et al.*, 2014; DAS *et al.*, 2015; NOWEK *et al.*, 2016). O miR-181 foi um dos primeiros miRNAs a ser demonstrado como preferencialmente expresso em tecido hematopoiético. Determinadas classes de miRNAs estão diretamente relacionadas com a hematopoese desregulada, a exemplo do miR-382-5p que foi encontrado em pacientes com neoplasias mielóides.

O miR-382 estimula a diferenciação de células mielóides, promovendo a expressão mielóide. Por meio de uma análise computacional estudo identificou prováveis mRNA alvos do miR-382-5p. que são regulados negativamente por super expressão (CICCONE;

ADRIAN, 2015). Novos biomarcadores para LMA Pacientes com LMA apresentam anormalias genéticas como deleções ou translocações em torno de 50% dos casos. Dentre elas destaca-se as anormalidades citogenéticas em citobandas dos cromossomos 5, 7, 11q23 além das translocações e inversões como por exemplo as t (15; 17) (q22; q12), t (8; 21) (q22; q22) ou inv (16) (P13.1; q22). Essas últimas indicam um prognóstico favorável na remissão da doença, monossomias, deleções do braço longo do cromossomo 5 e outras anormalidades complexas indicam um prognóstico desfavorável.

Em contrapartida os outros 50% dos pacientes não apresentam anormalidades citogenéticas, indicando que na patogênese da LMA alterações epigenéticas também estão presentes, evidenciando assim o caráter heterogêneo da doença (ESTEY, 2013; MEDINGER; LENGGERKE; PASSWEG, 2016). Devido ao caráter heterogêneo da LMA, em muitos casos os processos envolvidos na progressão da LMA e as bases moleculares não são totalmente esclarecidos. Cerca de 50% dos pacientes não apresentam anormalidades citogenéticas, sendo assim, a adoção de novos marcadores torna-se necessária para melhor compreensão da patogênese envolvida na doença.

A partir daí uma terapia mais específica pode ser indicada e conseqüentemente uma melhor resposta terapêutica possa ser alcançada. Aproximadamente 35 a 40% dos pacientes jovens tem conseguido sucesso na cura da LMA, nos pacientes com mais de 60 anos o prognóstico também melhorou, mas ainda é restrito (MARCUCCI *et al.*, 2013; SONG *et al.*, 2013). Quantidade significativa de miRNAs estáveis são encontrados fora da célula, nos fluidos corporais, o que sugere que os miRNAs secretados podem estar empacotados dentro de vesículas de forma que os proteja das enzimas de degradação, as RNases.

Os miRNAs podem estar protegidos da degradação por empacotamento em vesículas lipídicas, em complexos com proteínas de ligação ao RNA, ou por ambos os mecanismos sendo, portanto possível a utilização dessas moléculas como biomarcadores para diagnóstico da LMA (ALLEGRA *et al.*, 2012). A descoberta de que os miRNAs podem servir como potenciais biomarcadores ultrapassa o problema da recolha de amostras de tecidos por meio de procedimentos invasivos, tais como biópsia ou cirurgia. Diversos estudos sobre a expressão de miRNA foram realizados para identificar e comprovar que os miRNAs que são diferencialmente expressos entre as amostras normais e leucêmicas (ZHI *et al.*, 2013; NOWEK *et al.*, 2016; MALUMBRES 2012; GILICZE *et al.*, 2014).

Alterações nos perfis de expressão de miRNA de pacientes com ou sem alterações citogenéticas têm impacto no diagnóstico, na resposta ao tratamento e na sobrevida global dos pacientes (MARCUCCI *et al.*, 2013; SONG *et al.*, 2013). Nenhum dos esquemas de classificação atuais são totalmente precisos, o que sugere que será necessário um entendimento mais completo das mudanças genéticas e epigenéticas na patogênese da AML para melhor classificação de risco, abordagens terapêuticas mais eficazes (LEY *et al.*, 2013).

3.4 PERFIS DE EXPRESSÃO DE miRNA Na LMA

Vários estudos têm analisado os perfis de expressão de miRNAs circulantes em pacientes portadores de LMA para assinaturas de miRNA específicas da doença. O perfil de expressão de miRNA na circulação pode fornecer um prognóstico

e indicar uma conduta melhor terapêutica, além de indicar o processo molecular envolvidos na patogênese da LMA. Alguns miRNAs se comportam como supressores de tumor e outros como oncomiRs, estes podem estar alteração na sua regulação que pode ser super expresso ou sub expresso, regulados positivamente ou negativamente (MARCUCCI *et al.*, 2013; UFKIN *et al.*, 2014; SCHOOOF LECHMAN; DICK, 2016; HUANG *et al.*, 2015) (TABELA 1).

Tabela 1 – Perfis de expressão de miRNA na LMA

Autor	Ano	miRNA	Modulação
Schotte, Pieters, Denboer	2012	miR-145	
Schotte, Pieters, Denboer	2012	miR-146	
Gilicze, <i>et al.</i>	2014	miR-223	
Gilicze, <i>et al.</i>	2014	miR-27a	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-10a-5p	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-93-5p	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-129-5p	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-155-5p	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-181b-5p	
Zhi, <i>et al.</i>	2013	miR-320d	
Mundy-Boose	2016	miR-29b	
Li, <i>et al.</i>	2013	miR-193a	
Favreau, <i>et al.</i>	2016	miR-199b	
Favreau, <i>et al.</i>	2016	miR-3151	
Tang, <i>et al.</i>	2015	miR-210	
Butrym, <i>et al.</i>	2015	miR-204	
Ufkin, <i>et al.</i>	2014	miR-125b	

Fonte: os autores

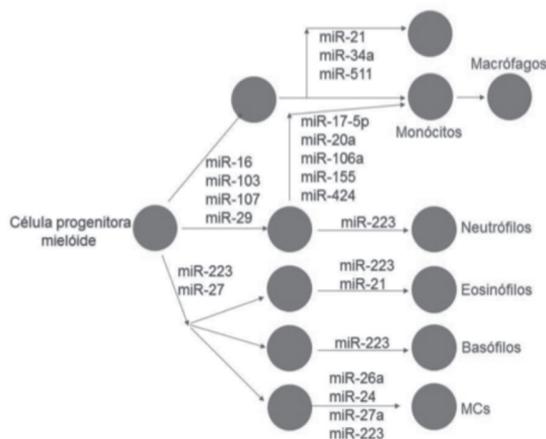
Legenda: - Super expresso/ - Subexpresso

O miR-181 foi uma das primeiras classes de miRNAs demonstradas que é expresso preferencialmente em células tronco do tecido hematopoiético e que estimula a diferenciação da linhagem de células B. Silenciamento de miR-145 e miR-146a em células tronco hematopoiéticas de rato resultou em síndrome mielodisplásica que evoluiu para uma leucemia mieloide (SCHOTTE; PIETERS; DENBOER, 2012; MALUMBRES, 2012). O miR-223 é um modulador essencial e central de controle da linhagem mielóide e parece controlar a diferenciação granulocítica nos seres humanos.

Em modelo de camundongos demonstrou-se que o miR-223 é um regulador negativo da diferenciação granulocítica além da responsável pela diferenciação e ativação em neutrófilos. Em relação a quantidade do miR-27a demonstrou-se que em mieloblastos foi baixa e em granulócitos foi alta, entretanto regulado negativamente para neutrófilos, eosinófilos. Observou-se também que uma expressão sus-

tentada de miR-155 em células estaminais hematopoiéticas poderia aumentar o número de granulócitos in vivo⁴⁵ (FIGURA 6).

Figura 6 – Regulação miRNA na diferenciação mielóide



Fonte: Adaptado de Gilicze e outros autores (2014).

Estudo realizado 2012 para identificação de miRNAs circulantes como bio-marcadores para diagnóstico de LMA, analisou a presença de miRNAs em pacientes com LMA com subtipos variados de M1 a M5. Foram detectados seis miRNAs no soro com concentração significativamente aumentadas em pacientes com LMA comparando-se com o grupo normal (controle). Os miRNAs detectados em alta concentração foram: miR-10a-5p, miR-93-5p, miR-129-5p, miR-155-5p, miR-181b-5p e miR-320d. O miR-181b-5p foi identificado como um potencial fator de prognóstico que foi significativamente associada a uma sobrevida global prolongada nos pacientes que tinham altos níveis desse miRNA.

Sugere-se que ele pode estar relacionado com ativação de gene supressor de tumor (ZHI *et al.*, 2013). A família de miR-181, especificamente expressa em células hematopoiéticas, tem sido relacionada com a regulação da diferenciação de células B, células T e células Natural Killer (NK) durante a hematopoese normal e está fortemente evidenciada sua ligação com a patogênese da LMA. Níveis elevados do miR-181 que atua como um supressor de tumor na patogênese da LMA, tem impacto positivo na sobrevida desses pacientes. O papel de miR-181 como um marcador para diagnóstico e prognóstico em LMA tem sido discutido assim como seu uso como potencial alvo terapêutico (WENG *et al.*, 2015).

3.5 CÉLULAS NK PARECEM TER ATIVIDADE INIBIDORA LEUCÊMICA

Por influência do miR-29b pode ocorrer uma falha na vigilância dessas células na LMA. Em um modelo de rato tentou-se esclarecer os mecanismos que levam a falha na vigilância das NK no controle da LMA. Resultados indicaram que a evasão da vigilância leucêmicas de células NK ocorre por meio de desregulação miR-29b, representando um

mecanismo de fuga imune no câncer (MUNDY-BOSSE, *et al.*, 2016). Os níveis de expressão de miR-193a foram determinados em células hematopoiéticas humanas isoladas a partir de doadores saudáveis e de amostras para diagnóstico de pacientes com LMA.

Observou-se que o miR-193a é expresso em níveis mais elevados no grupo saudável do que pacientes LMA. Níveis mais altos de miR-193a em pacientes com LMA foram associados a uma melhor resposta terapêutica e maior sobrevida global, enquanto que baixos níveis desse miRNA, a resposta terapêutica débil e prognóstico reservado (LI *et al.*, 2012). A perda de miR-199b pode levar à mieloproliferação e níveis baixos desse miRNA em pacientes com LMA está relacionado com pior prognósticos e diminuição de sobrevida global. Aumento na expressão de MiR-3151 um fator de mal prognóstico assinatura de miRNA associada com alta expressão de miR-3151.

MiR-3151 é um marcador de prognóstico em LMA onde a super expressão pode estar associada a uma resposta deficiente com remissões incompletas e sobrevida mais curta (FAVREAU *et al.*, 2016). O nível de expressão de miR-210 foi significativamente maior na medula óssea e soro de pacientes com LMA do que em controles saudáveis. O nível de expressão de miR-210 no soro foi reduzido significativamente quando os pacientes atingiram a remissão completa. O aumento dos níveis séricos de miR-210 foi associado com mau prognóstico na LMA. Esse miRNA pode ser útil como biomarcador para prever a resposta ao tratamento em pacientes com LMA (TANG *et al.*, 2015).

Em 2014 estudo mostrou que a expressão de miR-204 é sub, expressa em pacientes com LMA e foi associado a pacientes com sobrevivência global pobre. A expressão mais elevada de miR-204 em doentes após terapia de indução foi correlacionada com remissão³⁸. O miR-125b é super expresso no sangue neoplásico, inclusive na LMA. A super expressão constitutiva de miR-125b em camundongos induz a diferenciação mielóide. Existe uma indicação de que o miR-125b numa célula mielóide pode atuar como um oncomiR capaz de transformar células e influenciar nos mecanismos de apoptose, ciclo celular e diferenciação (UFKIN *et al.*, 2014).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existe uma estreita relação entre a expressão de miRNA aberrante e a patogênese da LMA. A determinação dos perfis de miRNAs no soro de pacientes com LMA é bastante significativa para diagnóstico, prognóstico e avaliação da reposta terapêutica. Determinar com precisão o nível da expressão de miRNA circulante é fundamental para o estabelecimento de assinaturas de miRNAs e identificação de novos biomarcadores. Essas moléculas estão diretamente ligadas aos processos de controle celular e têm papel relevante na evolução da LMA que possui uma heterogeneidade patogênica, levando a diferentes prognósticos e resposta terapêutica.

Aprofundamentos nesses estudos podem conduzir a uma maior compreensão das alterações epigenéticas mediadas pelo miRNA, o que é necessário para um diagnóstico preciso e orientação de conduta terapêutica para os pacientes acometidos pela LMA. Assim, essas moléculas são potencialmente interessantes para diagnóstico, prognóstico e possível alvo terapêutico.

REFERÊNCIAS

AHMAD, J. *et al.* MicroRNA in carcinogenesis and cancer diagnostics: a new paradigm. **The Indian journal of medical research**, New Delhi, v.137, n.4, p.680-694, abr. 2013.

ALLEGRA, A. *et al.* Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review). **International journal of oncology**, Athens, v.41, n.6, p.1897-1912, dez. 2012.

ARDILA-MOLANO, J; VIZCAÍNO, M; SERRANO. Circulating microRNAs as potential cancer biomarkers. **Revista Colombiana de Cancerología**, Colombia, v.19, n.4, p.229-238, jan. 2015.

ARTCIBASOVA, A.V. *et al.* MiRImpact, a new bioinformatic method using complete microRNA expression profiles to assess their overall influence on the activity of intracellular molecular pathways. **Cell Cycle**, Georgetown, v.15, n.5, p.689-698, jan. 2016.

BARTEL, D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. **Cell**, Cambridge, v.116, n.2, p.281-297, jan. 2004.

BUENO, M.J. *et al.* Combinatorial effects of microRNAs to suppress the Myc oncogenic pathway. **Blood**, New York, v.117, n.23, p.6255-6266, jun. 2011.

BUTRYM, A. *et al.* Low expression of microRNA-204 (miR-204) is associated with poor clinical outcome of acute myeloid leukemia (AML) patients. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, London, v.34, n.1, p.1-5, jul. 2015.

CICCONE, M; ADRIAN, C.G. MicroRNAs in Myeloid Hematological Malignancies. **Current genomics**, Hilversum, v.16, n.5, p.336-348, out. 2015.

DAS, R.P. *et al.* Elucidation of the Molecular Interaction between miRNAs and the HOXA9 Gene, Involved in Acute Myeloid Leukemia, by the Assistance of Argonaute Protein through a Computational Approach. **Genomics and informatics**, Seoul, v.13, n.2, p.45-52, jun. 2015.

DI LEVA, G. *et al.* MicroRNAs in cancer. **Annual review of pathology**, Palo Alto, v.9, p.287-314, jan. 2014.

DJURANOVIC, S; NAHVI, A; GREEN, R. MiRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay. **Science**, New York, v.336, n.6078, p.237-240, abr. 2013.

DONG, X. *et al.* MicroRNA-223-3p suppresses leukemia inhibitory factor expression and pinopodes formation during embryo implantation in mice. **American journal of translational research**, Madison, WI, v.8, n.2, p.1155-1163, fev. 2016.

DZIKIEWICZ-KRAWCZYK, A. *et al.* Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding. **Journal of hematology and oncology**, London, v.7, n.1, p.1-13, jun. 2014.

EBERT, M.S.; SHARP, P.A. Roles for microRNAs in conferring robustness to biological processes. **Cell**, Cambridge, v.149, n.3, p.515-524, abr. 2012.

ESTEY, E.H. Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management. **American journal of hematology**, New York, v.88, n.4, p.317-327, abr. 2013.

FAVREAU, A.J. *et al.* MiR-199b, a novel tumor suppressor miRNA in acute myeloid leukemia with prognostic implications. **Experimental hematology and oncology**, London, v.3, n.5, p.4, fev. 2016.

GAZON, H. *et al.* Impaired expression of DICER and some microRNAs in HBZ expressing cells from acute adult T-cell leukemia patients. **Oncotarget**, Albany, v.24, n.7, p.30258-30275, maio 2016.

GILICZE, A.B. *et al.* Myeloid derived microRNAs, miR-223, miR27a, and miR-652, are dominant players in myeloid regulation. **BioMed research international**, New York, p.1-9, 2014.

HIGGS, G.; SLACK, F. The multiple roles of microRNA-155 in oncogenesis. **Journal of clinical bioinformatics**, London, v.3, n.1, p.1-8, jul. 2013.

HUANG, K. *et al.* MicroRNA-519 enhances HL60 human acute myeloid leukemia cell line proliferation by reducing the expression level of RNA-binding protein human antigen R. **Molecular medicine reports**, Athens, v.12, n.6, p.7830-7836, dez. 2015.

IORIO, M.V.; CROCE, C.M. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review. **EMBO molecular medicine**, Chichester, v.4, n.3, p.143-159, jun. 2017.

ISMAIL, I. *et al.* MicroRNAs as Potential Biomarkers in Acute Promyelocytic Leukaemia. **New Journal of Science**, Cairo, p.1-6, dez. 2014.

JIANG, X. *et al.* MiR-495 is a tumor-suppressor microRNA down-regulated in MLL-rearranged leukemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, DC, v.109, n.47, p.19397-19402, nov. 2012.

- KHALAJ, M. *et al.* Pathogenic microRNA's in myeloid malignancies. **Frontiers in genetics**, Lausanne, v.5, p.361, nov. 2014.
- LEY, T.J. *et al.* Genomic and epigenetic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. **The New England journal of medicine**, Boston, v. 368, n. 22, p. 2059-2074, mai. 2013.
- LI, Z. *et al.* Up-regulation of a HOXA/PBX3 homeobox-gene signature following down-regulation of miR-181 is associated with adverse prognosis in patients with cytogenetically abnormal AML. **Blood**, New York, v.119, n.10, p.2314-2324, mar. 2012.
- LI, Y. *et al.* Epigenetic silencing of microRNA-193a contributes to leukemogenesis in t (8;21) acute myeloid leukemia by activating the PTEN/PI3K signal pathway. **Blood**, New York, v.121, n.3, p.499-509, jan. 2013.
- LIU, B; LI, J; CAIRNS, M.J. Identifying miRNAs, targets and functions. **Briefings in bioinformatics**, Oxford, v.15, n.1, p.1-19, jan. 2014.
- MALUMBRES, M. MiRNAs versus oncogenes: the power of social networking. *Molecular systems biology*. **Molecular systems biology**, London, v.8, n.1, p.569, fev. 2012.
- MARCUCCI, G. *et al.* Clinical role of microRNAs in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: miR-155 upregulation independently identifies high-risk patients. **Journal of clinical oncology**, New York, v.31, n.17, p.2086-2093, jun. 2013.
- MEDINGER, M; LENGGERKE, C; PASSWEG, J. Novel therapeutic options in Acute Myeloid Leukemia. **Leukemia Research Reports**, Oxford, v.6, n.39, out. 2016.
- METZELER, K.H. *et al.* A stem cell-like gene expression signature associates with inferior outcomes and a distinct microRNA expression profile in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. **Leukemia**, London, v.27, n.10, p.2023-2031, out. 2013.
- MUNDY-BOSSE, B.L. *et al.* MicroRNA-29b mediates altered innate immune development in acute leukemia. **The Journal of clinical investigation**, New Haven, v.126, n.12, p.4404-4416, dez. 2016.
- NOWEK, K. *et al.* Aberrant expression of miR-9/9* in myeloid progenitors inhibits neutrophil differentiation by post-transcriptional regulation of ERG. **Leukemia**, London, v.30, n.1, p.229-237, jan. 2016.
- PING, Z. *et al.* Prognostic Genomic Biomarkers for Acute Myeloid Leukemia (AML) Based on French-American-British (FAB) Subtypes. **Blood**, New York, v.128, n.22, p.5259-5259, jan. 2016.

REDDY, K.B. Micro RNA (miRNA) in cancer. **Cancer cell inter**, London, v.15, n.1, p.1-6, abr. 2015.

RÖHR, C. *et al.* High-throughput miRNA and mRNA sequencing of paired colorectal normal, tumor and metastasis tissues and bioinformatic modeling of miRNA-1 therapeutic applications. **PLoS One**, San Francisco, CA, v.8, n.7, p.e67461, jul. 2013.

ROMERO-CORDOBA, S.L. *et al.* MiRNA biogenesis: biological impact in the development of cancer. **Cancer biology and therapy**, Georgetown, v.15, n.11, p.1444-1455, jan. 2014.

SCHOOF, E.M; LECHMAN, E.R; DICK, J.E. Global proteomics dataset of miR-126 overexpression in acute myeloid leukemia. **Data in Brief**, Amsterdam, v.9, p.57-61, ago. 2016.

SCHOTTE, D; PIETERS, R; DENBOER, M L. MicroRNAs in acute leukemia: from biological players to clinical contributors. **Leukemia**, London, v.26, n.1, p.1-12, jan. 2012.

SHIH, A.H. *et al.* The role of mutations in epigenetic regulators in myeloid malignancies. **Nature Reviews Cancer**, London, v.12, n.9, p.599-612, set. 2012.

SI, X. *et al.* Upregulation of miR-99a is associated with poor prognosis of acute myeloid leukemia and promotes myeloid leukemia cell expansion. **Oncotarget**, Albany, v.7, n.47, nov. 2016.

SONG, S. J. *et al.* The oncogenic microRNA miR-22 targets the TET2 tumor suppressor to promote hematopoietic stem cell self-renewal and transformation. **Cell stem cell**, Cambridge, v.13, n.1, p.87-101, jul. 2013.

TANG, X. *et al.* Overexpression of miR-210 is associated with poor prognosis of acute myeloid leukemia. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, Warsaw, v.21, p.3427-3433, nov. 2015.

UFKIN, M.L. *et al.* MiR-125a regulates cell cycle, proliferation, and apoptosis by targeting the ErbB pathway in acute myeloid leukemia. **Leukemia research**, Oxford, v.38, n.3, p.402-410, mar. 2014.

WALTER, B.R. *et al.* Significance of FAB subclassification of " Acute Myeloid Leukemia, NOS" in the 2008 WHO classification: analysis of 5,848 newly diagnosed patients. **Blood**, New York, v. 21, n. 3, p. 424-2431, jan. 2013.

WANG, X.S. *et al.* MicroRNA-29a and microRNA-142-3p are regulators of myeloid differentiation and acute myeloid leukemia. **Blood**, New York, v.119, n.21, p.4992-5004, jan. 2012.

WENG, H. *et al.* The pathological role and prognostic impact of miR-181 in acute myeloid leukemia. **Cancer genetics**, New York, v.208, n.5, p.225-229, maio 2015.

XU, L.H. *et al.* Blood-Based Circulating MicroRNAs are Potential Diagnostic Biomarkers for Leukemia: Result from a Meta-Analysis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, New York, v.38, n.3, p.939-949, mar. 2016.

YEH, C H; MOLES, R; NICOT, C. Clinical significance of microRNAs in chronic and acute human leukemia. **Molecular cancer**, London, v.15, n.37, p.2-16, maio 2016.

ZHI, F. *et al.* Identification of circulating microRNAs as potential biomarkers for detecting acute myeloid leukemia. **PloS one**, San Francisco, v.8, n.2, p.e56718, fev. 2013.

ZINI, R. *et al.* MiR-382-5p controls hematopoietic stem cell differentiation through the downregulation of MXD1. **Stem Cells and Development**, Larchmont, v.25, n.19, p.1433-1443, out. 2016.

Data do recebimento: 7 de Março de 2017

Data da avaliação: 26 de Junho 2017

Data de aceite: 30 de Junho de 2017

1 Biomédica; Discente do curso de Especialização em Biologia Molecular da Universidade de Pernambuco – UPE. E-mail: alexandraksm@hotmail.com

2 Biomédica; Doutora em Ciências Biológicas; Docente do Curso de Biomedicina, Faculdade Integrada de Pernambuco – FACIPE. E-mail: anaprcosta@gmail.com