

# **INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **RNA NÃO CODIFICANTES E CANCRO**

Trabalho submetido por  
**Ana Rita Carriço de Almeida**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**fevereiro de 2024**



# INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

## MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

### RNA NÃO CODIFICANTES E CANCRO

Trabalho submetido por  
**Ana Rita Carriço de Almeida**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof<sup>ª</sup> Doutora Alexandra Maia e Silva**

e coorientado por  
**Prof<sup>ª</sup> Doutora Ana Clara Ribeiro**

**fevereiro de 2024**



## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe e ao meu pai por todo o apoio, pela força, pelo amor, por tudo, para vocês nunca haverá palavras para agradecer o suficiente.

À Prof<sup>a</sup> Doutora Alexandra Maia e Silva e à Prof<sup>a</sup> Doutora Ana Clara Ribeiro pela ajuda, paciência e empenho na realização desta monografia.

Ao meu irmão pela preocupação e pela força.

Às minhas estrelinhas que embora não me vejam completar esta fase, sei que estão sempre comigo e me ajudaram a completá-la.

Às minhas avós, tia e à Kiki pelo carinho e por me motivarem sempre.

À Inka por ter sido sempre a minha companhia, por todo o amor e por tudo o que me ensinou até ao fim.

Ao Bálu e ao Woody por serem o motivo do sorriso fácil.

À Ana, Mónica e Inês pela amizade, por estarem sempre lá.

À Susana, Margarida, Duarte e Maria por todos os bons momentos que vivemos nestes 5 anos e pelas infíndáveis tardes e noites de estudo, trabalhos e não só.

À turma mais pequena que podia ter tido por todos os bons momentos que passámos.

À Egas Moniz por ter sido a minha casa durante 5 anos.

A toda a equipa das Farmácias Belo e Avis por tudo o que me ensinaram e pelos bons momentos.

Aos amigos e colegas que não referi, mas que fizeram parte deste percurso e me apoiaram.



## RESUMO

Cancro é o termo utilizado para denominar um vasto conjunto de doenças que provocam alterações nas células e podem reduzir consideravelmente a qualidade e esperança de vida. O cancro tem origem em alterações genéticas incluindo alterações no DNA não codificante.

Para além das alterações genéticas também as alterações epigenéticas podem contribuir para o desenvolvimento do cancro. Os três tipos principais de modificações epigenéticas são: a metilação do DNA, modificações nas histonas e RNA não codificantes (ncRNA).

Os RNA não codificantes têm vindo a ganhar uma atenção considerável devido à sua capacidade de regular a expressão génica. Um RNA não codificante é uma molécula de RNA endógena que não é traduzida em proteína.

Desde que se descobriu que o cancro pode estar associado a alterações epigenéticas houve um aumento significativo nos estudos sobre interações e alterações epigenéticas nos mecanismos de carcinogénese onde se inclui a ação dos RNA não codificantes.

Os RNA não codificantes são moléculas reguladoras que podem ser oncogénicos, quando ajudam na iniciação e progressão do cancro ou podem funcionar como supressores de tumor quando inibem, bloqueiam ou reduzem o desenvolvimento do cancro.

Uma abordagem para identificar ncRNA importantes é estudar aqueles que regulam ou estão desregulados em determinadas patologias. Há quatro tipos principais de ncRNA que são foco de maior atenção: *micro RNA* (miRNA), *long non-coding RNA* (lncRNA), *piwi interacting RNA* (piRNA) e *small interfering RNA* (siRNA).

A identificação de ncRNA associados a patologias pode contribuir para a descoberta de novos mecanismos que podem auxiliar no diagnóstico ou prognóstico da doença e, às vezes, até conduzir à identificação e desenvolvimento de novas terapêuticas.

Palavras-chave: ncRNA, cancro, terapêutica, expressão genómica



## **ABSTRACT**

Cancer is the term used to describe a wide range of diseases that cause changes in cells and can considerably reduce the quality and expectancy of life. Cancer originates from genetic changes including changes in non-coding DNA.

In addition to genetic changes, epigenetic changes can also contribute to the development of cancer. The three main types of epigenetic modifications are: DNA methylation, histone modifications, and non-coding RNA (ncRNA).

Non-coding RNAs have gained specific attention due to their ability to regulate gene expression. A non-coding RNA is an endogenous RNA molecule that is not translated into protein.

Since it was discovered that cancer may be associated with epigenetic changes, there has been a significant increase in studies on interactions and epigenetic changes in the mechanisms of carcinogenesis, which include the action of non-coding RNAs.

Non-coding RNAs are regulatory molecules that can be oncogenic when they help in the initiation and progression of cancer or can function as tumor suppressors when they inhibit, block or reduce cancer development.

One approach to identifying important ncRNAs is to study those that regulate or are deregulated in certain pathologies. There are four main types of ncRNA that are the focus of most attention: microRNA (miRNA), long non-coding RNA (lncRNA), piwi-interacting RNA (piRNA), and small interfering RNA (siRNA).

The identification of ncRNA associated with pathologies can contribute to the discovery of new mechanisms that can aid in the diagnosis or prognosis of the disease and, sometimes, even lead to the identification and development of new therapies.

Keywords: ncRNA, cancer, therapeutics, genomic expression



## ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	CARCINOGENESE .....	15
1.2	EPIGENÉTICA .....	19
1.3	OBJETIVOS.....	21
<b>2</b>	<b>RNA NÃO CODIFICANTE .....</b>	<b>23</b>
2.1	MICRO RNA .....	25
2.2	LONG NON-CODING RNA .....	26
2.3	PIWIRNA.....	27
2.4	siRNA.....	29
<b>3</b>	<b>O PAPEL DOS RNA NÃO CODIFICANTES APLICADO EM DIFERENTES TIPOS DE CANCRO.....</b>	<b>31</b>
3.1	MICRO RNA NO CANCRO ORAL .....	31
3.2	MICRO RNA NO CANCRO DA MAMA .....	33
3.3	LONG NON-CODING RNA NO CANCRO DO PULMÃO .....	36
3.4	PIWIRNAS NO CANCRO COLORRETAL.....	39
<b>4</b>	<b>ESTRATÉGIAS DE APLICAÇÃO DOS RNA NÃO CODIFICANTES NA TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA.....</b>	<b>41</b>
4.1	siRNA, DESENVOLVIMENTOS NA TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA .....	41
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>



## **ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA 1 – INÍCIO DE FORMAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE UM CANCRO (TUMOR MALIGNO) (ADAPTADO DE CHAUDHRY ET AL., 2022). .....	15
FIGURA 2 – TIPO DE CANCRO MAIS COMUM POR PAÍS EM 2020 EXCLUINDO CANCRO DE PELE DE ACORDO COM A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS)., INCLUINDO TODAS AS IDADES E GÊNEROS (ADAPTADO DE WORLD HEALTH ORGANIZATION & INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2023). .....	18
FIGURA 3 – PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS (ADAPTADO DE VARSOMICS, 2020) .....	20
FIGURA 4 – TIPOS DE RNA NÃO CODIFICANTES (ADAPTADO DE CATALANOTTO ET AL., 2016; MAHMOODI CHALBATANI ET AL., 2019; YU ET AL., 2019; ZHANG ET AL., 2019; WANG & FARHANA, 2023) .....	24
28	
FIGURA 5 - FUNÇÕES BIOLÓGICAS, GENES ALVO E APLICAÇÕES CLÍNICAS DE PI RNAs EM DIFERENTES CANCROS (ADAPTADO DE MOKARRAM ET AL., 2021) .....	28
FIGURA 6 - ONPATTRO™ (PATISIRAN), NANOPARTÍCULA LIPÍDICA QUE ENCAPSULA SI RNA CONTRA TRANSTIRRETINA MUTANTE, PARA O TRATAMENTO DA AMILOIDOSE POR TRANSTIRRETINA (CLINICAL TRIALS ARENA, 2018) .....	42



## **ÍNDICE DE GRÁFICOS**

GRÁFICO 1 – NÚMERO ESTIMADO DE CASOS EM 2020 DE CADA UM DOS CANCROS MAIS  
COMUNS DE ACORDO COM A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), INCLUINDO  
TODAS AS IDADES E GÊNEROS. (ADAPTADO DE GLOBAL CANCER OBSERVATORY, 2023)  
..... 18



## **ÍNDICE DE TABELAS**

TABELA 1- MICRO RNA NO CANCRO ORAL COMO PROMOTORES OU SUPRESSORES DE TUMOR (ADAPTADO DE TU ET AL., 2015; FU ET AL., 2017; OSAN ET AL., 2021) .....	32
TABELA 2 – MICRO RNA COMO PROMOTORES OU SUPRESSORES DE METASTIZAÇÃO NO CANCRO DA MAMA (ADAPTADO DE SINGH & MO, 2013) .....	34
TABELA 3 - ALVOS E FUNÇÕES DOS MICRO RNA DA FAMÍLIA MIR-30 (ADAPTADO DE YANG ET AL.,2017) .....	36



## LISTA DE ABREVIATURAS

**3'UTR** – *3' untranslated regions*

**ATTR** – amiloidose por transtirretina

**BTG1** – *B-cell translocation gene 1*

**CDK6** – *cyclin-dependent kinase 6*

**CPCNP** – cancro do pulmão de células não pequenas

**CPCP** – cancro do pulmão de células pequenas

**DNA** – ácido desoxirribonucleico (do inglês *Deoxyribonucleic Acid*)

**EGFR** – fator de crescimento epidérmico (do inglês: *Epidermal Growth Factor Receptor*)

**FAS** *Fas cell surface death receptor*

**GPAT2** – *Glycerol-3-phosphate acyltransferase 2, mitochondrial*

**HER2** – *Human Epidermal growth factor Receptor-type 2*

**HSF1** – *heat shock factor 1*

**lncRNA** – *long non coding RNA*

**LNP** – nanopartícula lipídica

**mRNA** – RNA mensageiro

**miRNA** – micro RNA

**mTOR** – *mammalian target of rapamycin*

**OMS** – Organização Mundial da Saúde

**OS** – *Overall survival*

**P-ERM** – *Proteins - ezrin, radixin and moesin*

**PI3K/ATK** – *Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT Serine-Threonine Kinase 1*

**PIP3** – *Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate*

**PTEN** – *Phosphate and Tension homolog*

**piwiRNA** – *piwi-interacting RNA*

**RFS** – *Relapse-free survival*

**RNA** – Ácido ribonucleico (do inglês *Ribonucleic Acid*)

**rRNA** – RNA ribossomal

**RNAi** – RNA de interferência

**siRNA** – *small interfering RNA*

**TNM** – *Tumor (T), Nodes (N), Metastases (M)*

**TPM1** – *Tropomyosin*

**tRNA** – RNA transferência

**VEGF** – Fator de crescimento endotelial vascular (do inglês: *Vascular Endothelial Growth Factor*)

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Carcinogénese

O cancro é uma doença genética que é caracterizada por um crescimento anormal e descontrolado de células devido a alterações no DNA, as células ignoram os sinais de regulação, o que leva a uma proliferação exagerada, transformação e consequentemente as células tornam-se malignas (figura 1) (Cooper, 2000).

O cancro tem início numa célula que se divide continuamente e acaba por formar um clone de células que partilham a mesma informação genética. Nesta sequência de acontecimentos, o DNA pode ficar lesado ou alterado, com mutações que afetam o crescimento, a divisão e a morte celular fazendo com que as células não reajam aos fatores que regulam os processos celulares, gerando assim um crescimento desordenado de novas células (tumores ou neoplasias) (Chaudhry et al., 2022).

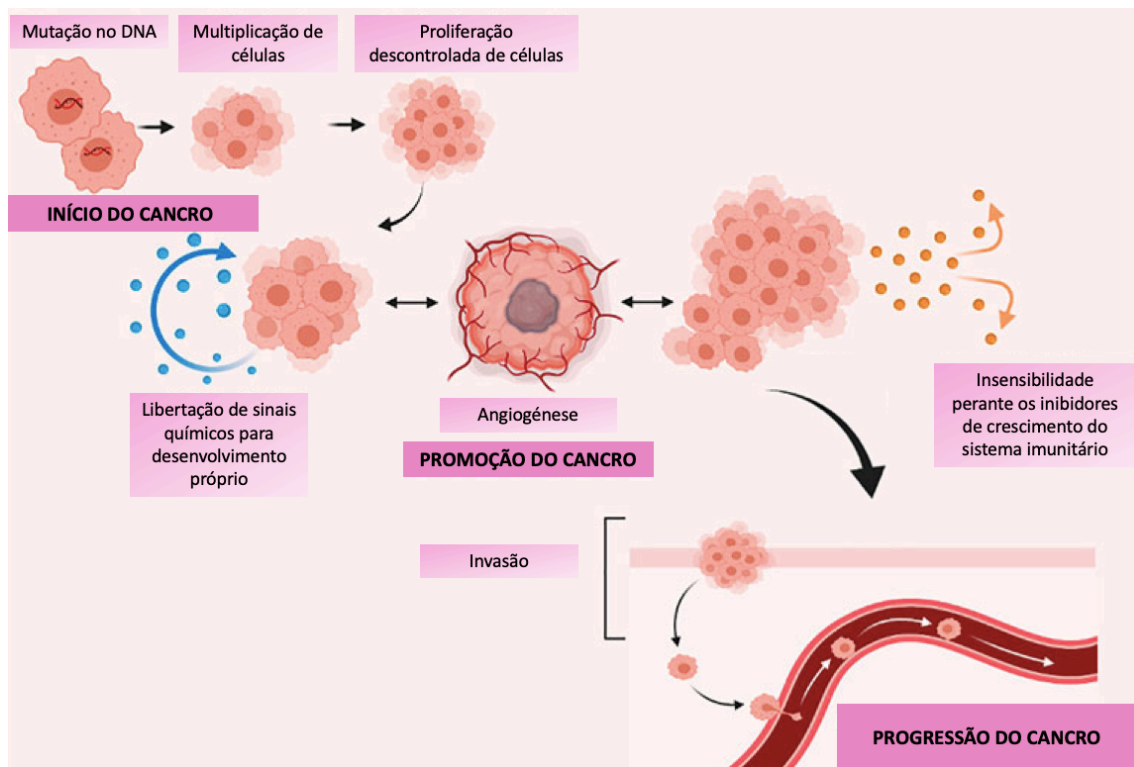


Figura 1 – Início de formação e desenvolvimento de um cancro (tumor maligno) (adaptado de Chaudhry et al., 2022).

O cancro pode ser considerado não como um evento, mas sim um processo *multistep* que se desenvolve progressivamente ao longo do tempo. O período de tempo varia consideravelmente e depende do tipo, ordem e velocidade com que as mutações se acumulam, bem como do tipo de células, tecido ou órgão e da taxa de divisão das células (Cooper, 2000).

A carcinogénese é descrita como o processo pela qual uma célula saudável se transforma numa célula cancerígena e é composta por 3 fases, iniciação, promoção e progressão (Baba & Câtoi, 2007).

A iniciação é o primeiro evento genético deste processo, a célula desenvolve alterações em alguns dos seus genes, devido a fatores intrínsecos ou extrínsecos sendo que os últimos mencionados podem decorrer de agentes químicos, como por exemplo poluentes atmosféricos e tabaco ou agentes físicos por exemplo radiação que podem promover a iniciação de uma célula. Alguns vírus e outros agentes biológicos são dos fatores etiológicos mais importantes na cancerização (Wu et al., 2016).

Na segunda etapa, a promoção, a célula que já sofreu iniciação apresenta alterações genéticas e vai sofrer a ação dos oncopromotores levando à proliferação celular descontrolada e conseqüentemente induzirão a malignidade das células (Weston & Harris, 2003).

As células cancerígenas, necessitam de nutrientes para poderem sobreviver e proliferarem no organismo. Através da libertação de proteínas estimuladoras do crescimento vascular são originados vasos para suportarem as suas necessidades. A este processo inserido na promoção dá-se o nome de angiogénese (Liu et al., 2023).

A angiogénese é um processo sequencial que promove ainda mais o desenvolvimento do cancro. Este processo é desencadeado pela hipoxia das células tumorais quando o tumor atinge um determinado tamanho. A hipoxia é caracterizada por um nível de tensão de oxigénio inferior a 5–10 mmHg e é o fator principal para o início da angiogénese tumoral. Quando em hipoxia as células tumorais vão secretar moléculas, como fatores de crescimento, que se ligam aos recetores nas células endoteliais vasculares dos vasos sanguíneos adjacentes e induzem a formação de novos vasos (Teleanu et al., 2019).

Uma das principais características desta doença é a sua capacidade de se alastrar pelo organismo e invadir outros tecidos do corpo, a este processo dá-se o nome de invasão e metastização, que corresponde à última etapa da carcinogénese, a progressão (Cooper, 2000).

Este processo envolve a disseminação de células cancerígenas de uma lesão primária para órgãos distais, por uma variedade de mecanismos celulares, tais como, invasão do estroma, capacidade de escapar à vigilância imunológica, inibindo os seus processos anti tumorais, evitando e modulando o microambiente tecidual e evoluindo e adaptando a sua resistência à terapêutica (Suhail et al., 2019).

A metastização é considerada a principal causa de mortalidade associada ao cancro (Lyden et al., 2022).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), epidemiologicamente observa-se que:

- O cancro é uma das principais causas de morte em todo o mundo, sendo responsável por quase 10 milhões de mortes em 2020, ou responsável por uma em cada seis mortes.
- Os cancros com maior frequência são os cancros da mama, do pulmão, do cólon e do reto e da próstata (figura 2 e gráfico 1).
- Cerca de um terço das mortes por cancro estão associadas ao consumo de tabaco, ao elevado índice de massa corporal, ao consumo de álcool, a maus hábitos alimentares e à falta de atividade física.

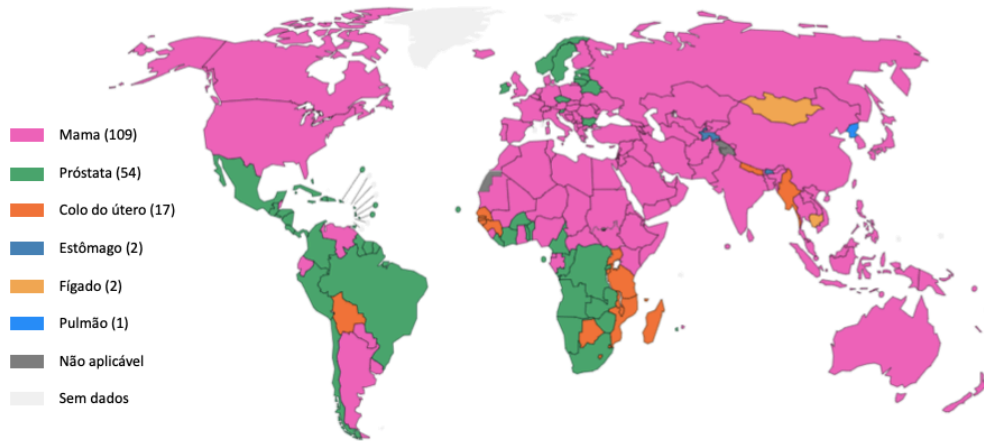


Figura 2 – Tipo de cancro mais comum por país em 2020 excluindo cancro de pele de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), incluindo todas as idades e géneros (adaptado de World Health Organization & International Agency for Research on Cancer, 2023)

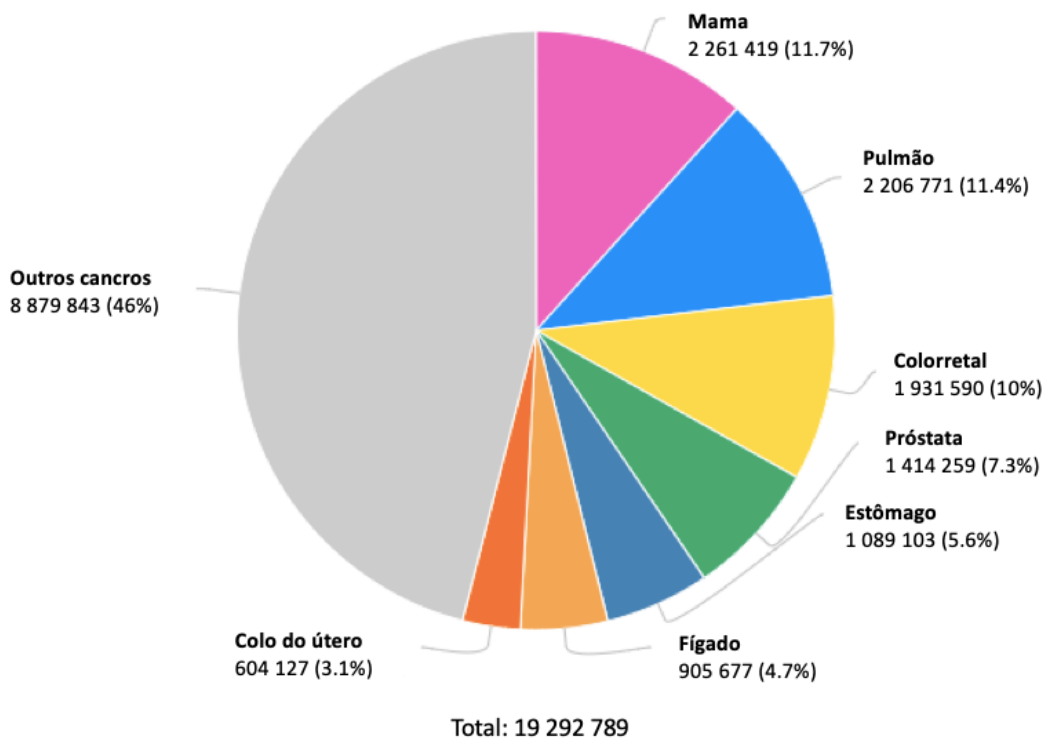


Gráfico 1 – Número estimado de casos em 2020 de cada um dos cancros mais comuns de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), incluindo todas as idades e géneros. (adaptado de Global cancer observatory, 2023)

Sabe-se que apenas 10% dos cânceros têm origem hereditária, o que significa que o cancro na sua maioria é uma doença adquirida ou esporádica como consequência de hábitos ou comportamentos (Wang, 2016).

Deste modo grande percentagem dos cânceros estão relacionados com o ambiente e hábitos pouco saudáveis, e não com causas hereditárias como comumente se pensa. Atualmente há um enorme esforço por parte da comunidade científica para tentar identificar os fatores de risco que são possíveis de controlar, de modo a prevenir o aparecimento do cancro (Parsa, 2012).

## 1.2 Epigenética

O termo Epigenética foi introduzido em 1942 por Conrad Waddington, nascido em Evesham, Inglaterra. Era um embriologista e biólogo que veio revolucionar o campo da genética com a sua descoberta (Deichmann, 2016).

O biólogo publicou um artigo na revista *Evolution*, no qual conseguiu demonstrar a herança de uma característica adquirida numa população em resposta a um estímulo ambiental (Waddington, 1956; Noble, 2015).

A epigenética é descrita como o processo que envolve uma mudança na expressão do gene sem haver alteração na sequência de DNA, está relacionada com alterações normalmente reversíveis não diretamente relacionadas com a sequência do DNA, mas sim com o modo como a informação genética é utilizada. Esta é uma área científica que tem vindo a ganhar destaque nos últimos anos, devido ao seu potencial promissor na área da saúde, em particular na oncologia (Hamilton, 2011).

Durante muito tempo a comunidade científica focou-se apenas em fatores genéticos ou ambientais para descreverem patologias humanas. No entanto, o papel da epigenética nas doenças humanas tem vindo a ser considerado nos últimos anos. Na última década, este tema atraiu muita atenção, especialmente em distúrbios complicados, como, cancro e doenças autoimunes, bem como distúrbios neurodegenerativos e psicológicos (Moosavi & Motevalizadeh Ardekani, 2016).

Os três principais mecanismos epigenéticos são: metilação do DNA, nomeadamente as ilhas CpG, modificações nas caudas das histonas e RNA não

codificantes (ncRNA) (figura 3). A metilação do DNA e modificações nas histonas são dos mais estudados e bem caracterizados (Li, 2021).

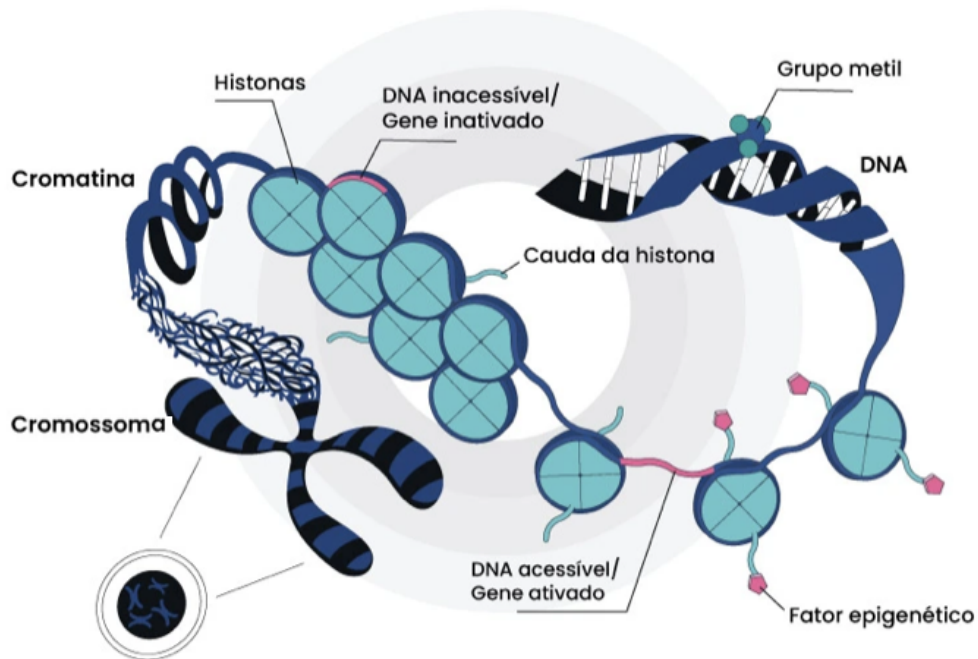


Figura 3 – principais modificações epigenéticas (adaptado de Varsomics, 2020)

Os RNA não codificantes têm vindo a ganhar uma atenção considerável devido à sua capacidade de regular a expressão génica. Um RNA não codificante é uma molécula de RNA que não é traduzida numa proteína (Galasso et al., 2010).

Devido ao facto de as alterações epigenéticas possuírem a característica de serem reversíveis, as moléculas que têm como alvo os processos epigenéticos parecem ser estratégias anticancerígenas promissoras. Atualmente já estão a ser estudadas e desenvolvidas moléculas direcionadas para reguladores epigenéticos e ensaios clínicos estão a ser desenvolvidos. (Bennett & Licht, 2018).

Como consequência os mecanismos epigenéticos, têm vindo a ser considerados uma aposta promissora não só na área da oncologia, mas também na área da saúde e bem-estar em geral.

### 1.3 Objetivos

A presente monografia pretende focar-se no papel que os ncRNA sobretudo os miRNA, lncRNA, piwiRNA e siRNA desempenham no desenvolvimento e progressão de alguns tipos de cancro, tendo como metodologia a consulta e análise de artigos no *PubMed*, *B-on* e *ScienceDirect*, nos últimos 10 anos, usando como palavras-chave, ncRNA, microRNA, piwiRNA, lncRNA, siRNA, *cancer e therapeutical target*. No decorrer da pesquisa foi possível perceber que os recentes estudos se encontram promissores nas perspectivas de desenvolvimento de novas terapêuticas para o cancro tendo os ncRNA como alvos ou os próprios ncRNA como fármacos. A pesquisa teve maior foco nos artigos mais recentes embora tenham sido também consultados artigos mais antigos com informação relevante.



## **2 RNA NÃO CODIFICANTE**

O genoma humano contém mais de 3 mil milhões de nucleótidos distribuídos por 23 pares de cromossomas, dos quais 70% são transcritos em RNA, no entanto, menos de 2% destes RNA é que são codificantes sendo a grande maioria RNA não codificante (ncRNA) (Marian, 2014; Grixti & Ayers, 2020).

Durante muito tempo os cientistas acreditaram que as zonas de DNA que eram somente transcritas e não traduzidas não desempenhavam funções de interesse nas células, mas após muitos anos de pesquisa, descobriu-se que os RNA não codificantes transcritos dessas zonas são capazes de atuar como reguladores da expressão genética (Ratti et al., 2020).

Existem diversos tipos e funções dos ncRNA, os mais conhecidos são o RNA ribossomal (rRNA) e transferência (tRNA) (Figura 4) que estão diretamente envolvidos na tradução. O rRNA é o principal constituinte dos ribossomas, estruturas localizadas no citoplasma responsáveis pela síntese proteica. O tRNA é uma pequena molécula de RNA que desempenha um papel fundamental na síntese de proteínas. O tRNA funciona como um elo entre a molécula de RNA mensageiro (mRNA) e a síntese proteica. Um aminoácido é adicionado à cadeia polipeptídica através de um tRNA específico, que se emparelha com a sua sequência complementar na molécula de mRNA através do emparelhamento do codão com o anticodão, garantindo que o aminoácido correto é inserido na proteína que está a ser sintetizada (Wang & Farhana, 2023).

No entanto, existem outros ncRNA (figura 4), como os RNA que tem a função de regular a síntese de proteínas, como é o caso dos microRNA (miRNA), considerados silenciadores pós-transcricionais que se podem ligar ao mRNA e, assim, impedir que ele seja traduzido fazendo com que não haja síntese proteica. Acredita-se que cerca de até 60% dos genes que codificam proteínas podem ser regulados por microRNA (Catalanotto et al., 2016).

Há também os RNA longos não codificantes (lncRNA), que durante muito tempo foram ignorados pela comunidade científica, que achava que estes não desempenhavam qualquer função de interesse. Contudo, atualmente sabe-se que não é verdade e que

desempenham funções reguladoras, podendo atuar ao nível da transcrição, pós-transcrição, tradução e modificações pós-traducionais (Zhang et al., 2019).

Outra classe de ncRNA abordada são os piwiRNA, uma classe de pequenos RNA, que estão associados a proteínas. Estes foram originalmente descritos como estando apenas presentes nas linhas germinativas. Atualmente sabe-se que também estão presentes nas células somáticas. Os piwiRNA estão envolvidos na espermatogénese, na manutenção das células germinativas, no silenciamento de transposões (elementos móveis do DNA) e na regulação epigenética e genómica. Estudos mostram que a expressão destes está envolvida em várias doenças incluindo o cancro, verificando-se que a expressão anormal destes surge como um fator crítico em etapas da carcinogénese (Yu et al., 2019).

E por fim os *small interfering RNA* (siRNA), que tal como o nome sugere atuam interferindo na expressão dos genes, sobretudo a nível do silenciamento genético, através de um processo denominado RNA de interferência (RNAi), um processo pós-transcricional que inibe a expressão de genes através da clivagem do mRNA numa zona específica. Esta função tem demonstrado ser uma estratégia terapêutica promissora em algumas doenças incluindo o cancro, contudo ainda precisa de enfrentar algumas barreiras *in vivo* como estabilidade e libertação do siRNA no alvo pretendido (Mahmoodi Chalbatani et al., 2019).

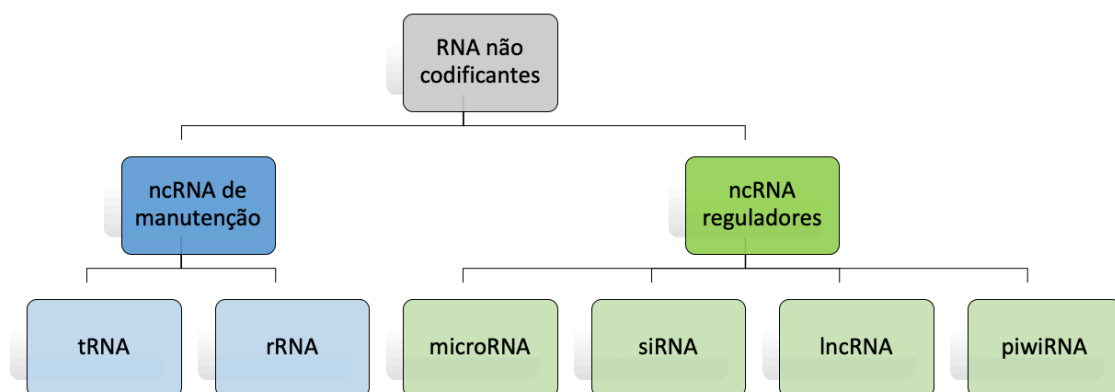


Figura 4 – Tipos de RNA não codificantes (adaptado de Catalanotto et al., 2016; Mahmoodi Chalbatani et al., 2019; Yu et al., 2019; Zhang et al., 2019; Wang & Farhana, 2023)

Com os avanços na área da genética molecular, percebeu-se que apesar de não codificarem proteínas, estes ncRNA desempenham funções relevantes no organismo, na regulação da expressão genômica, podendo ser usados como alvos terapêuticos ou como uma estratégia terapêutica. Estes ncRNA mencionados podem funcionar como oncogenes ou como genes supressores de cancro, dependendo se ajudam a progressão do cancro ou pelo contrário se retardam ou inibem o seu desenvolvimento. Se forem ncRNA que ajudam o cancro a desenvolver-se podem ser alvos de fármacos ou outras terapêuticas, quando desempenham funções supressoras de tumor podem ser usados como uma estratégia terapêutica (Yan & Bu, 2021).

## 2.1 Micro RNA

Os microRNA (miRNA), são das mais pequenas moléculas de RNA não codificantes. Foram descobertos em 1993 em *Caenorhabditis elegans* e têm entre 19 a 24 nucleótidos de comprimento. A sua função principal é atuar como silenciador pós-transcricional (Bhaskaran & Mohan, 2014).

Estima-se que existam mais de 2000 miRNA codificados pelo genoma humano e acredita-se que regulem um terço dos genes presentes no genoma (Hammond, 2015).

Os microRNAs podem regular a expressão de genes envolvidos em várias doenças, incluindo o cancro. A primeira descoberta de um miRNA associado a um cancro foi publicada em 2002. Um único miRNA pode interagir com dezenas de mRNA diferentes o que conseqüentemente pode influenciar a expressão de vários genes em simultâneo. Os miRNAs são capazes de se ligar a 3'UTR (*3' untranslated regions*) de um mRNA, zonas do mRNA que regulam a transcrição o que conduz à supressão pós-transcricional (Shi et al., 2021).

Diversos estudos têm demonstrado a relação dos microRNA com o cancro. As análises de expressão dos microRNA mostra que estes podem desempenhar funções em etapas da carcinogénese. O padrão de expressão dos microRNA pode ser associado com o tipo de cancro, estadio e outras variáveis clínicas, pelo que o perfil dos microRNA pode ser usado como uma ferramenta para diagnóstico e prognóstico (Lee & Dutta, 2009).

Dependendo da função dos miRNAs no desenvolvimento do cancro, eles podem ser classificados como miRNAs supressores de tumores, quando atuam inibindo a

expressão de oncogenes, ou classificado como miRNAs oncogénicos quando promovem a carcinogénese, ou inibem a expressão de genes supressores de tumores (Smolarz et al., 2022).

É possível perceber que os miRNA por poderem interferir com um vasto número de genes têm vindo a ser considerados poderosos reguladores genéticos. A sua capacidade de regulação da expressão genética faz com quem estes ncRNA sejam uma estratégia terapêutica interessante para restauração de funções celulares que são alteradas por uma doença. Contudo apesar de ser uma característica positiva, este amplo espectro de ação dos miRNA acaba por ser também uma característica negativa por poder levar a ações fora do alvo pretendido (Diener et al., 2022).

## 2.2 Long non-coding RNA

Os RNA longos não codificantes representam uma classe de moléculas de RNA que têm mais de 200 nucleótidos de comprimento e não codificam proteínas. Os lncRNA participam numa variedade de processos biológicos (Zhang et al., 2019).

Vários estudos mostram que os lncRNA desempenham diversos papéis na regulação da transcrição genética, pós-transcrição, tradução e modificação epigenética. A expressão dos lncRNA está associada a várias doenças. Os lncRNAs podem regular a proliferação celular, apoptose, migração e invasão durante o desenvolvimento do cancro (Jiang et al., 2019).

Alterações na expressão de determinados lncRNA promovem o desenvolvimento do tumor e a sua metastização. Os lncRNA podem desempenhar funções supressoras ou promotoras de tumor. Devido aos seus padrões de expressão em vários tecidos e às suas características de expressão em cada um deles, os lncRNA mostram ser uma forte promessa como novos biomarcadores e alvos terapêuticos (Bhan et al., 2017).

A regulação transcricional por lncRNA pode funcionar tanto em *cis* quanto em *trans*, e pode controlar negativa ou positivamente a expressão de um gene codificador de proteínas. Os lncRNA funcionam em *cis* quando seus efeitos são restritos ao cromossoma do qual são transcritos, e funcionam em *trans* quando afetam genes localizados noutros cromossomas (Kornienko et al., 2013).

Embora a função da maioria dos lncRNA seja desconhecida, o número de lncRNA está a crescer e muitas publicações sugerem que eles desempenham papéis na regulação da expressão genética influenciando o desenvolvimento e diferenciação de algumas doenças humanas, incluindo o cancro (Bhat et al., 2016).

## **2.3 piwiRNA**

Os RNA que formam complexos com as proteínas piwi (piRNA) são um novo tipo de pequenos RNA não codificantes, que têm entre 24 a 31 nucleótidos de comprimento e que se ligam às proteínas PIWI (Liu et al., 2019).

Os RNA associados a PIWI, ou piRNA, são os RNA curtos não codificantes mais abundantes. Mais de 20 000 genes que codificam para piRNA foram encontrados no genoma humano (Zhou et al., 2023).

Os piRNA podem agir a nível transcricional e pós-transcricional e ter um papel vital no silenciamento de genes expressos em células germinativas. Eles também estão envolvidos no silenciamento e ativação epigenéticos (Iwasaki et al., 2015).

Os piRNA foram originalmente descobertos em células germinativas e são considerados reguladores essenciais para a preservação da linha germinativa. Podem também influenciar a expressão genética em células somáticas. Vários estudos têm demonstrado que a desregulação dos piRNA pode promover ou reprimir o aparecimento e desenvolvimento de cancros (Cai et al., 2022).

Apesar de serem considerados um novo campo na investigação do cancro, os piRNA foram encontrados em diferentes tipos de cancro mostrando ter um impacto crítico na proliferação e progressão da carcinogénese. Podendo também ser uteis para a utilização em critérios de classificação de tumores (Figura 5) (Mokarram et al., 2021).

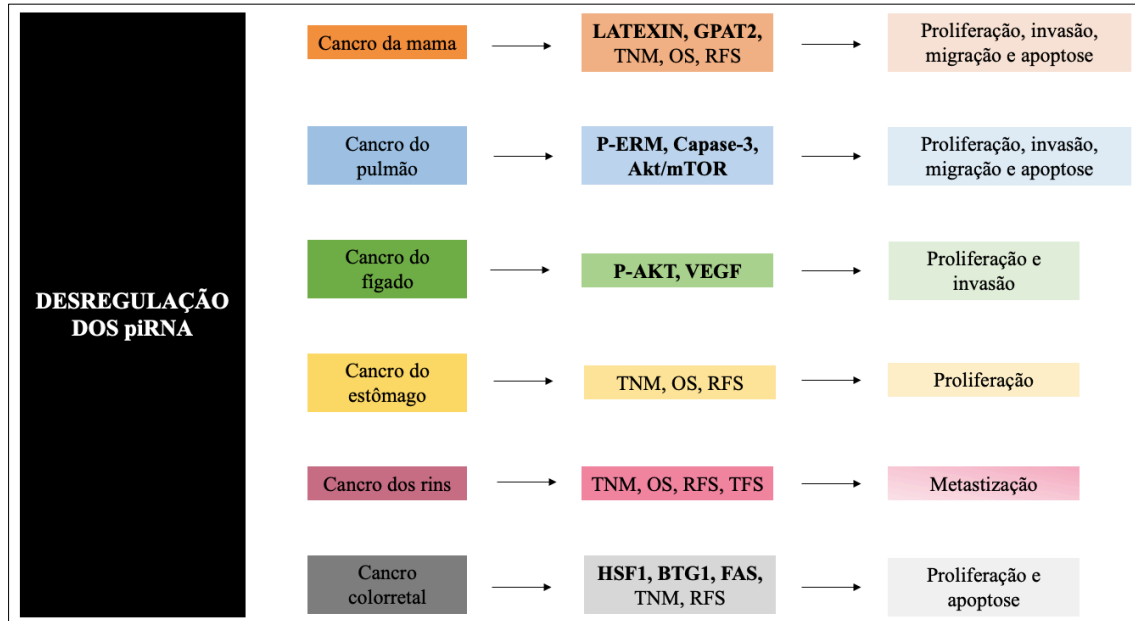


Figura 5 - Funções biológicas, genes alvo e aplicações clínicas de piRNAs em diferentes cancros (adaptado de Mokarram et al., 2021)

Os piRNAs possuem três características únicas que os distinguem dos outros ncRNA. Primeiro, os piRNAs são gerados a partir de regiões denominadas *clusters* de piRNA, que estão situados principalmente nas partes pericentromérica e subtelomérica dos cromossomas. Em segundo lugar, ao contrário dos siRNAs e miRNAs, que possuem precursores transcricionais de cadeia dupla, os precursores dos piRNAs são transcritos de cadeia simples. E por fim, os piRNAs apresentam modificação 2'-O-metil na extremidade 3' e ligam-se especificamente às proteínas PIWI para desempenhar as suas funções (Chen et al., 2021).

Existe evidência científica que mostra, sobretudo nos cancros digestivos, que os piRNA controlam a expressão de genes e vias essenciais associadas à progressão destes sendo relatados como possíveis biomarcadores para o diagnóstico e tratamento de cancros digestivos (Cai et al., 2022).

Os piRNA ganham assim destaque nos cancros digestivos podendo vir a ter um papel fundamental em potenciais aplicações de diagnóstico e terapêutica.

## 2.4 siRNA

Os *small interfering RNA* (*siRNA*) são pequenos RNA de cadeia dupla que exercem os seus efeitos dividindo-se em cadeias simples e ligando-se às suas sequências alvo de RNA mensageiro (mRNA). Esta ação catalisa uma série de atividades que fazem com que o mRNA alvo se quebre e se degrade, interrompendo a tradução e induzindo a supressão genética (Padda et al., 2023).

A descoberta primeiro em plantas e mais tarde em células de mamíferos, de que estes RNA não codificantes são capazes de regular a expressão de genes, por um processo denominado RNAi (RNA de interferência) conduziu a avanços bastante importantes na área da genética e da pesquisa biomédica. (Sarisozen et al., 2015).

Devido à sua capacidade de inibir a expressão de genes, os siRNA ganharam atenção como um potencial agente terapêutico em muitas doenças genéticas. Os siRNA podem ser usados como ferramentas para estudar a função de um único gene, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, e são considerados uma nova e atraente classe terapêutica, especialmente para o tratamento de cancro e outras doenças de base genética (Dana et al., 2017).



### **3 O papel dos RNA não codificantes aplicado em diferentes tipos de cancro**

#### **3.1 Micro RNA no cancro oral**

O cancro oral é definido como um grupo de tumores malignos que afetam a cavidade oral, incluindo os lábios as amígdalas e a faringe (Rivera, 2015).

O cancro oral é o 6º cancro mais comum no mundo, está associado a índices de mortalidade elevados, sobretudo pelo seu diagnóstico tardio. Os principais fatores de risco associados a este cancro são o tabaco e o álcool. O fumo do tabaco pode causar transformações na mucosa oral tendo um efeito cancerígeno direto nas células epiteliais (Roi et al., 2020).

Neste tipo de cancro a evidência científica mostra que os microRNA têm um papel importante na metastização. Geralmente o tumor original não é a principal razão da morte, a maioria das mortes é causada por metástases. Cerca de 9/10 mortes por cancro são causadas por metástases, que são também causa de maior morbilidade (Eslami et al., 2023).

A desregulação por parte dos miRNA no cancro oral tem sido objeto de um número considerável de estudos e de pesquisa científica. Os micro RNA que têm uma ação reguladora positiva ajudam o cancro a progredir, enquanto os que têm ação reguladora negativa podem retardar a progressão do tumor (Osan et al., 2021).

Foi relatado que no cancro oral alguns miRNA como: miR-21, miR-24, miR-31, miR-184, miR-211, miR-221, miR-222 exercem uma regulação positiva sobre o tumor ajudando no seu desenvolvimento, enquanto outros como o miR-203, miR-100, miR-200, miR-133a, miR-133b, miR-138 e miR-375 exercem uma regulação negativa inibindo ou retardando o desenvolvimento do tumor, influenciando os mecanismos de carcinogénese oral (Tabela 1) (Osan et al., 2021).

Tabela 1- Micro RNA no cancro oral como promotores ou supressores de tumor (adaptado de Tu et al., 2015; Fu et al., 2017; Osan et al., 2021)

<b>Micro RNA no cancro oral</b>	
<b>Como promotores de tumor</b>	<b>Como supressores de tumor</b>
miR-21	miR-100
miR-24	miR-133a
miR-31	miR-133b
miR-155	miR-138
miR-184	miR-200
miR-211	miR-203
miR-221	miR-375
miR-222	
miR-372	
miR-373	

Com função promotora de tumor temos por exemplo o miR-21, foi demonstrado que este miRNA pode inibir a expressão de *Tropomyosin* (TPM1), bem como de *Phosphate and Tension homolog* (PTEN) (Li et al., 2009).

O TPM1 é um gene que é descrito como tendo ação supressora de tumor, estudos mostram que quando este apresenta níveis altos a sobrevida global dos pacientes é maior, enquanto pacientes com níveis baixos apresentam uma sobrevida global menor (Pan et al., 2017).

O PTEN é considerado um importante gene supressor de tumor e a proteína que ele codifica tem um efeito contrário à *Phosphatidylinositol 3-Kinase* (PI3K) ao desfosforilar o *Phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate* (PIP3) em PIP2. A redução de expressão dos níveis de PTEN pelo miR-21 é diretamente responsável pela hiperestimulação da via de sinalização *Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT Serine-Threonine Kinase 1* (PI3K/AKT) (Osan et al., 2021).

A PI3K corresponde a um conjunto de enzimas que regulam alguns processos celulares, sendo um dos principais a proliferação. Este conjunto de enzimas é conhecido por atuarem como sinalizadores na via PI3K/AKT, via que está associada à proliferação celular no cancro (Akinleye et al., 2013).

Em suma o que acontece é que enquanto a ação do PTEN é supressora, a do PI3K é o oposto, havendo redução de PTEN pelo miR-21 vai prevalecer a ação do PI3K que conduz à hiperestimulação desta via e conseqüentemente vai conferir à célula uma

elevada resistência à apoptose e também levar à proliferação descontrolada (Chalhoub & Baker, 2009).

O miR-24 é outro exemplo de RNA não codificante que ajuda o tumor a progredir e para além disso aumenta a resistência deste ao tratamento. Este mostrou ter um papel significativo no que toca à proliferação descontrolada de células cancerígenas orais (Zheng et al., 2015; Zhao et al., 2016).

Outro exemplo de miRNA com ação oncogénica mencionado por outros autores é o miR-155 que promove a proliferação celular e suprime a apoptose ao inibir a expressão de p27Kip1 um gene com função supressora de tumor (Fu et al., 2017).

Foi também relatado noutra artigo que a sobre expressão de miR-372 e miR-373 estava associada a metastização, invasão vascular linfática e baixa sobrevida, por regulação da expressão da *large tumor suppressor kinase 2* (LATS2) em células do carcinoma oral (Tu et al., 2015).

No que toca a miRNA que funcionam como supressores de tumor temos como exemplo o miR-203. Este miRNA mostrou ser capaz de afetar a proliferação do tumor e para além disso foi verificado que também é capaz de tornar as células cancerígenas sensíveis à cisplatina no cancro oral (Lin et al., 2016).

Outro exemplo é o miR-375 que inibe a proliferação celular e promove a apoptose celular induzindo a paragem do ciclo celular na fase G0 / G1 e aumenta a sensibilidade das células tumorais à radiação, o que demonstra que o miR-375 tem potencial terapêutico no carcinoma oral (Zhang et al., 2017).

É possível perceber, que neste tipo de cancro existe um número elevado de miRNA descritos, que podem influenciar o seu desenvolvimento de forma positiva ou negativa e atuar em diferentes etapas da carcinogénese.

### **3.2 Micro RNA no cancro da mama**

O cancro da mama é o cancro mais diagnosticado em mulheres, podendo também afetar o sexo masculino. No mundo é a segunda causa de morte mais comum por cancro em mulheres. Anualmente a cada 10 novos casos de cancro 1 ou mais correspondem a cancro da mama (Alkabban & Ferguson, 2022).

O cancro de mama tem origem nos tecidos mamários, por norma nos ductos mamários ou nos lóbulos (Akram et al., 2017).

Neste tipo de cancro as influências hormonais têm uma grande importância, elas podem estimular o crescimento e desenvolvimento do cancro. O tumor é analisado para verificar a presença de recetores de estrogénio e/ou progesterona (Watkins, 2019).

Atualmente o cancro da mama é classificado com base nos seus recetores, esta classificação é fundamental para se perceber qual a melhor abordagem terapêutica a adotar. Esta classificação consiste na avaliação de biópsias com o intuito de analisar a presença de proteínas específicas, assim temos os cancros que possuem recetores de estrogénio, os que possuem recetores de progesterona, os que têm a presença de HER2 e os que não possuem nenhuma das proteínas mencionadas que são denominados triplo negativo (Orrantia-Borunda et al., 2022).

A metastização é das principais causas da mortalidade por cancro da mama. Vários estudos analisaram e mostraram o envolvimento dos miRNA no processo de metastização. Alguns miRNA que promovem a metastização no cancro da mama incluem o miR-9, miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-155 e família miR-373/520 (Tabela 2). Por outro lado, temos também miRNA que atuam como supressores de metástase no cancro da mama incluem miR-7, miR-22, miR-30, miR-31, miR-126, miR-145, miR-146, miR-193b, miR-205, miR-206, miR-335, miR-448, miR-661 (Tabela 2) (Singh & Mo, 2013).

Tabela 2 – Micro RNA como promotores ou supressores de metastização no cancro da mama (adaptado de Singh & Mo, 2013)

<b>Micro RNA na metastização no cancro de mama</b>	
<b>Como promotores de tumor</b>	<b>Como supressores de tumor</b>
miR-9	miR-7
miR-10b	miR-22
miR-21	miR-30
miR-29a	miR-31
miR-155	miR-126
miR-373/520	miR-145
	miR-146
	miR-193b
	miR-205
	miR-206
	miR-335
	miR-448
	miR-661

Como exemplo de promotor da metastização temos, o miR-9 que aumenta os níveis do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) o que contribui para o aumento da motilidade celular e aumento da capacidade de invasão das células do cancro da mama (Ma et al., 2010).

No caso de supressor de metastização temos o miR-7 que tem a capacidade de atingir o recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), responsável por regular processos celulares importantes, como proliferação e diferenciação, e é frequentemente sobre expresso em diferentes tipos de cancro, incluindo cancro da mama (Webster et al., 2009).

Outro exemplo de miRNA com função supressora é o miR-22, foi relatado que este inibe o crescimento do tumor e a metastização. Quando sobre expresso verificou-se que o miR-22 pode ter como alvo os genes envolvidos na senescência, que inclui CDK6, SIRT1 e Sp1, induzindo o envelhecimento celular, além da diminuição da motilidade celular e da invasão *in vitro* (Xu et al., 2011). Um estudo independente mostrou que o miR-22 também pode ter como alvo o recetor de estrogênio  $\alpha$  e tem efeito inibitório na proliferação de células de cancro da mama dependentes deste (Pandey & Picard, 2009).

Um outro artigo mostrou o papel da família miR-30 no cancro da mama, não só na metastização, mas em outras etapas da carcinogénese.

Esta é uma família de miRNA que atua em algumas etapas da carcinogénese e é constituída por miR-30a, miR-30b, miR-30c-1, miR-30c-2, miR-30d e miR-30e. Esta família pode alterar a expressão de certos genes, os estudos mostram que podem desempenhar um papel supressor ou promotor de tumor. Esta família está presente em vários tipos de cancro como por exemplo, cancro da próstata, do ovário, da bexiga, contudo o foco vai ser no cancro da mama. O artigo analisado resumiu como se pode ver na tabela 3 algumas funções supressoras de tumor desta família de micro RNA no cancro da mama, quais os seus alvos e como consequência os processos de carcinogénese que influência (Yang et al., 2017).

Tabela 3 - Alvos e funções dos micro RNA da família miR-30 (adaptado de Yang et al., 2017)

<b>miRNA</b>	<b>Alvo</b>	<b>Função</b>
miR-30a	Metadherin	Supressão do crescimento tumoral
miR-30a	Eya2	Supressão de proliferação e migração tumoral
miR-30a	Vimentin	Inibição de migração e invasão
miR-30b	CCNE2	Fator de prognóstico para terapêutica com Trastuzumab
miR-30c	TWF1, VIM	Supressão do crescimento tumoral
miR-30c	YWHAZ	Inibição da invasão
miR-30c	TWF1	Inibição da resistência à quimioterapia

### 3.3 Long non-coding RNA no cancro do pulmão

O cancro do pulmão é um dos cancros mais frequentemente diagnosticados correspondendo à principal causa de morte por cancro no mundo, com uma estimativa de 2 milhões de novos casos e 1,76 milhões de mortes por ano (Thai et al., 2021).

O cancro do pulmão é definido como o cancro que tem origem nos alvéolos pulmonares ou nos brônquios, sendo a sua causa mais comum o fumo do tabaco, cerca de 90% dos casos de cancro do pulmão podem ser atribuídos ao tabagismo (Siddiqui et al., 2023).

Os tumores que têm início no pulmão, são divididos em dois grupos: cancro do pulmão de células não pequenas (CPCNP) que corresponde a 80-85% dos casos de cancro do pulmão e cancro do pulmão de células pequenas (CPCP) que corresponde a 15% dos casos (Lahiri et al., 2023).

No cancro do pulmão verificou-se que os lncRNA têm influência nas etapas de desenvolvimento deste, desempenhando funções na transformação das células, na proliferação, na apoptose celular e na invasão e metastização, ou seja, em todas as etapas da carcinogénese (Jiang et al., 2021).

### **Iniciação**

Os estudos mostram que 5 lncRNA podem induzir transformações malignas nas células epiteliais pulmonares e brônquicas, sendo que H19 é o lncRNA que mais se destaca, foi o primeiro lncRNA descoberto em células humanas e é altamente expresso durante o desenvolvimento do embrião e do feto, embora seja desativado na maioria dos tecidos logo após o nascimento. Inicialmente este lncRNA foi descrito como supressor de tumor, mas os estudos mais recentes demonstraram que exerce uma função oncogénica em várias doenças malignas, incluindo cancro do pulmão, da mama, do colo do útero, do esófago, dos ovários, dos ossos e da bexiga (Wang et al., 2019).

No cancro do pulmão os estudos mostram que o H19 para além de ter ação na iniciação do cancro pode também desempenhar funções a nível da proliferação celular (Zhang et al., 2016).

### **Promoção**

Existem 23 lncRNA conhecidos que estão associados à proliferação e apoptose de células do cancro do pulmão, como por exemplo ANRIL, HOTAIR, lncRNA-p21, MALAT1 entre outros (Wang et al., 2019).

MALAT1 é o primeiro lncRNA associado ao cancro do pulmão identificado. Promove a proliferação de células de cancro de pulmão através da regulação de caspase-8, caspase-3, BAX, BCL-2 e BCL-XL (Chen et al., 2016).

Por outro lado, temos PANDAR (promoter of CDKN1A antisense DNA damage-activated RNA) que demonstrou reprimir a proliferação *in vitro* e *in vivo* de células do CPCNP quando sobre expresso. A sobre expressão de PANDAR inibe significativamente o crescimento de células do CPCNP *in vitro* e *in vivo* e aumenta parcialmente a apoptose celular (Han et al., 2015).

## **Progressão**

Foi descoberto que 17 lncRNA estão implicados na invasão e metastização no cancro do pulmão, sendo dois destes MALAT1 e HOTAIR (Wang et al., 2019).

Desde a sua descoberta associado ao cancro do pulmão de células não pequenas, que MALAT1 tem sido associado a várias doenças malignas humanas, incluindo cancro do pulmão, bexiga, mama, colorretal, esofágico, fígado, dos ovários, da próstata e de células renais (Gutschner et al., 2013).

No cancro do pulmão MALAT1 é significativamente sobre expresso e pode melhorar a invasão e metastização (Wu et al., 2015).

HOTAIR, o lncRNA originalmente identificado no cancro da mama, demonstrou ter uma regulação positiva numa variedade de cancros, incluindo cancro do pulmão. Este lncRNA liga-se ao co-repressor transcricional PRC2 e recruta PRC2 para silenciar os seus genes alvo. Estudos recentes identificaram que HOTAIR tem um papel oncogénico tanto no CPCP quanto no CPCNP, e consistente com essas observações, a regulação positiva do HOTAIR poderia melhorar os comportamentos agressivos das células do cancro do pulmão (Loewen et al., 2014).

No cancro do pulmão, a principal função do HOTAIR é a invasão e a metastização. No tipo de cancro mencionado observa-se que os níveis de HOTAIR são sempre acompanhados por metástases, um mau prognóstico e menor tempo de vida dos doentes (Liu et al., 2013).

Embora os lncRNA mencionados tenham sido divididos por etapas da carcinogénese é possível perceber que alguns podem desempenhar funções em mais que uma etapa, como por exemplo MALAT1, a evidencia científica mostra que tem ação na invasão e metastização (progressão), mas também na proliferação (promoção).

Esta presença dos lncRNA em todas as etapas da carcinogénese reforça a ideia de que são um potencial e promissor meio de diagnóstico, prognóstico ou alvo terapêutico nesta doença.

### **3.4 piwiRNAs no cancro colorretal**

Na prática clínica o cancro que afete o colon e/ou o reto é descrito como uma entidade tumoral única denominada cancro colorretal (Alzahrani et al., 2021).

O cancro colorretal é o segundo tipo de cancro mais diagnosticado no mundo em homens e nas mulheres corresponde ao terceiro tipo de cancro mais diagnosticado (Tariq & Ghias, 2016).

Neste tipo de cancro sabe-se que um diagnóstico precoce pode melhorar significativamente o prognóstico dos doentes, contudo nesta doença os doentes não apresentam manifestações clínicas típicas, nem sinais específicos numa fase inicial da doença resultando numa baixa taxa de diagnósticos precoces (Duan et al., 2022).

Os mecanismos pelos quais os piRNA contribuem para o cancro ainda não são totalmente compreendidos, incluindo no cancro colorretal (Ray & Mukherjee, 2023).

Estudos recentes descobriram a expressão anormal de piRNA em diferentes tipos de cancro, podendo desempenhar um papel promotor ou supressor de tumor, especialmente no cancro colorretal (AmeliMojarad et al., 2022).

Foi realizado um estudo onde foi analisado o perfil de expressão de piRNA em amostras de soro de pacientes com cancro colorretal. A análise mostrou desregulação de piR-1245 e piR-823 nos tecidos tumorais atuando como promotores da migração celular, invasão celular e como inibidores da apoptose (AmeliMojarad et al., 2022).

O piR-1245 foi identificado como um ncRNA frequentemente sobre expresso no cancro colorretal, sendo que esta sobre expressão está relacionada com doença avançada e metastática. Doentes que apresentem esta sobre expressão apresentam sobrevida global menor. Os autores sugerem que o uso deste piRNA pode ser interessante como um biomarcador de prognóstico no cancro colorretal. Este piRNA funciona como um oncogene promovendo a progressão do tumor. Alguns genes com funções supressoras de tumor foram identificados como seus alvos, ATF3, BTG1, DUSP1, FAS, NFKBIA, UPP1, SESN2, TP53INP1 e MDX1 sendo verificada uma correlação inversa entre a expressão destes e o piR-1245 no cancro colorretal (Weng et al., 2018).

Relativamente ao piR-823, foi demonstrado que este piRNA aumenta a proliferação celular e inibe a apoptose celular, podendo funcionar como um alvo terapêutico para o cancro colorretal (Yin et al., 2017).

O piR-54265 é outro piRNA sobre expresso neste tipo de cancro mostrando ter um papel oncogénico ao promover metastização, resistência à quimioterapia e inibir a apoptose. A alta expressão de piR-54265 também está correlacionada com menor sobrevida global e sobrevida livre de progressão (Mai et al., 2020).

Embora seja mencionado por alguns autores que estes ncRNA podem desempenhar funções promotoras ou supressoras de tumor neste tipo de cancro os artigos analisados mostraram sobretudo piRNA com funções promotoras de tumor.

## **4 ESTRATÉGIAS DE APLICAÇÃO DOS RNA NÃO CODIFICANTES NA TERAPÊUTICA ONCOLÓGICA**

### **4.1 siRNA, desenvolvimentos na terapêutica oncológica**

Após a descoberta da capacidade de silenciamento genético dos siRNA pelo RNAi, percebeu-se que esta função poderia ser desenvolvida numa nova classe de fármacos não convencionais que poderia inibir diretamente os genes que estão na base do desenvolvimento de determinadas patologias, incluindo o cancro (Dana et al., 2017).

Os siRNA parecem ser uma estratégia terapêutica útil para bloquear a expressão dos genes que estão envolvidos direta ou indiretamente na proliferação anormal de células cancerígenas, sobretudo devido à sua capacidade de silenciamento da expressão genética (Charbe et al., 2020).

Em agosto de 2018, foi aprovado pela FDA o primeiro siRNA terapêutico, para o tratamento da amiloidose por transtirretina (ATTR), denominado ONPATRO™ (Patisiran) (Figura 6), uma nanopartícula lipídica (LNP) que encapsula e fornece siRNA contra a transtirretina mutante tendo como alvo os hepatócitos. Este foi considerado um marco importante para o campo da terapêutica com recurso ao uso de siRNA, abrindo portas para o desenvolvimento de outros fármacos com este tipo de ncRNA (FDA, 2018; Hoy, 2018; Dong et al., 2019).

Este fármaco foi desenvolvido pela *Alnylam Pharmaceuticals*, fundada em 2002 e especializada no desenvolvimento de terapêuticas com o RNAi. Para além do ONPATRO™ desenvolveram também GIVLAARI® (givosiram) aprovado pela FDA em 2019, OXLUMO® (lumasiram) aprovado em 2020 e AMVUTTRA® (vultrisan) aprovado em 2022 (Alnylam® Pharmaceuticals, 2024).



Figura 6 - ONPATTRO™ (Patisiran), nanopartícula lipídica que encapsula siRNA contra transtirretina mutante, para o tratamento da amiloidose por transtirretina (Clinical Trials Arena, 2018)

O silenciamento de genes por siRNA é crucial para os alvos que não são acessíveis a pequenas moléculas, a anticorpos ou a proteínas. Vários estudos *in vivo* e *in vitro* confirmaram que a proliferação anormal de células cancerígenas poderia ser significativamente inibida pelo silenciamento mediado por siRNA. Além disso, os siRNA têm se mostrado muito promissores na potencialização da quimioterapia, sensibilizando algumas células cancerígenas resistentes aos fármacos (Charbe et al., 2019).

Vários tipos de sistemas têm sido testados para distribuição de siRNA, tais como conjugados com anticorpos, incorporação em micelas, associação a polissacarídeos naturais, micropartículas, entre outros. No entanto, algumas formulações à base de lípidos e outros materiais semelhantes a lípidos, como lipossomas, niossomas e partículas lipídicas de ácidos nucleicos estáveis (SNALP), provaram ser sistemas eficazes e promissores para distribuição *in vivo* de fármacos com recurso a siRNA (Mahmoodi Chalbatani et al., 2019).

Alguns aspetos importantes a ter em conta no uso dos siRNA:

No que toca ao comprimento dos siRNA para uso em aplicações terapêuticas, os estudos *in vitro* demonstraram que não devem ter mais de 30 nucleótidos de comprimento de modo a evitar uma resposta imune (Cuciniello et al., 2019).

Outro aspeto importante a ter em conta na aplicação terapêutica destes ncRNA é a seleção da sequência de mRNA que vai ser reconhecida pelo siRNA. Para se alcançar

um silenciamento genético eficiente e específico, é fundamental selecionar a sequência ideal, excluindo possíveis alvos para além do pretendido. Apesar deste problema poder ser resolvido recorrendo-se a diferentes algoritmos de predição específicos surgidos nos últimos anos, a eficácia do siRNA deve ser validada experimentalmente (Lam et al., 2015).

Desta maneira podemos afirmar que os siRNA funcionam como um intermediário do mecanismo de RNAi, um mecanismo que veio revolucionar a área da terapêutica. Estes siRNA podem inibir ou silenciar várias vias celulares, tendo como alvo mRNA específicos. Nas células cancerígenas, os siRNAs podem suprimir a expressão de vários genes promotores de tumor. A terapia com siRNA pode assim ser usada para aumentar a apoptose das células cancerígenas ou ativar uma resposta imune ao cancro (Pengnam et al., 2022).



## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É possível concluir que os RNA não codificantes são uma abordagem recente com bastante potencial no diagnóstico e até com possível envolvimento no tratamento de cânceros.

É um tema em desenvolvimento que tem vindo a ganhar bastante interesse pela comunidade científica e que mostra ter potencial para vir a ser um dos grandes tópicos num futuro próximo no que toca a desenvolvimentos no campo da genética humana e da oncologia.

Foi possível perceber que estes tipos de RNA estão presentes em diferentes cânceros, como por exemplo, o cancro da mama, que é uma das doenças com mais impacto no mundo atualmente, no cancro do pulmão que é o tipo de cancro mais associado à mortalidade, entre outros. Para além disso estes ncRNA podem atuar em diferentes etapas da carcinogénese, o que demonstra uma grande variedade em termos de opções de estudos futuros no que toca à evolução de formas de diagnóstico, prognóstico e terapêutica associado ao combate ao cancro.

Os RNA não codificantes mencionados (microRNA, lncRNA, piwiRNA e siRNA) mostram ter um papel fundamental em etapas da carcinogénese, podendo em alguns casos ter impactos positivos e noutros impacto negativo.

Uma melhor compreensão dos mecanismos de atuação destes RNA na cadeia de formação e desenvolvimento do tumor permitirá um desenvolvimento de novos métodos de abordagem terapêutica durante o tratamento de doentes oncológicos.

Em relação aos ncRNA, microRNA, piwiRNA e lncRNA foi possível perceber que são múltiplos e com diversas funções, positivas ou negativas, no processo tumoral, sendo alguns deles bastante interessantes e mais promissores que outros podendo ser usados como biomarcadores, estratégias terapêuticas ou alvos terapêuticos.

Nos siRNA percebe-se que a sua capacidade de silenciamento genético é determinante na atuação deste tipo de ncRNA e que a comunidade científica tem estudado bastante as suas aplicações terapêuticas, já existindo fármacos aprovados pela FDA.

No campo da oncologia embora ainda não haja um fármaco desenvolvido e aprovado com recurso a esta técnica é possível verificar que a investigação se encaminha para o seu possível desenvolvimento, existindo um número considerável de artigos sobre o seu potencial e promissor uso na terapêutica.

Embora seja um tema que demonstra ter tido um grande desenvolvimento e foco de atenção por parte da comunidade científica nos últimos anos, ainda parece ser um tema com muitos tópicos a explorar e que necessita de mais investigação experimental. No entanto, encaminha-se para um futuro bastante promissor numa doença que impacta de forma bastante significativa e negativa a vida de milhões de pessoas.

## 6 Referências bibliográficas

- Akinleye, A., Avvaru, P., Furqan, M., Song, Y., & Liu, D. (2013). Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitors as cancer therapeutics. *J Hematol Oncol*, 6(1), 88. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-6-88>
- Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A. U. (2017). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biol Res*, 50(1), 33. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0140-9>
- Alkabban, F., & Ferguson, T. (2022). Breast Cancer. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Alzahrani, S. M., Al Doghaither, H. A., & Al-Ghafari, A. B. (2021). General insight into cancer: An overview of colorectal cancer (Review). *Mol Clin Oncol*, 15(6), 271. <https://doi.org/10.3892/mco.2021.2433>
- AmeliMojarad, M., & Wang, J. (2022). The function of novel small non-coding RNAs (piRNAs, tRFs) and PIWI protein in colorectal cancer. *Cancer Treat Res Commun*, 31, 100542. <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2022.100542>
- Arena, C. T. (2018). *Onpattro (patisiran) for the Treatment of Polyneuropathy of Hereditary Transthyretin-Mediated Amyloidosis in Adults*. Retrieved 2024 from <https://www.clinicaltrialsarena.com/projects/onpattro-for-hereditary-transthyretin-mediated-amyloidosis/?cf-view>
- Baba, A., & Cătoi, C. (2007). Carcinogenesis. In *Comparative Oncology*. The Publishing House of the Romanian Academy
- Bennett, R. L., & Licht, J. D. (2018). Targeting Epigenetics in Cancer. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 58, 187-207. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-105106>
- Bhan, A., Soleimani, M., & Mandal, S. S. (2017). Long Noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm. *Cancer Res*, 77(15), 3965-3981. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2634>

- Bhaskaran, M., & Mohan, M. (2014). MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease. *Vet Pathol*, *51*(4), 759-774. <https://doi.org/10.1177/0300985813502820>
- Bhat, S. A., Ahmad, S. M., Mumtaz, P. T., Malik, A. A., Dar, M. A., Urwat, U., . . . Ganai, N. A. (2016). Long non-coding RNAs: Mechanism of action and functional utility. *Noncoding RNA Res*, *1*(1), 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2016.11.002>
- Cai, A., Hu, Y., Zhou, Z., Qi, Q., Wu, Y., Dong, P., . . . Wang, F. (2022). PIWI-Interacting RNAs (piRNAs): Promising Applications as Emerging Biomarkers for Digestive System Cancer. *Front Mol Biosci*, *9*, 848105. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.848105>
- Catalanotto, C., Cogoni, C., & Zardo, G. (2016). MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci*, *17*(10). <https://doi.org/10.3390/ijms17101712>
- Chalhoub, N., & Baker, S. J. (2009). PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. *Annu Rev Pathol*, *4*, 127-150. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092311>
- Charbe, N. B., Amnerkar, N. D., Ramesh, B., Tambuwala, M. M., Bakshi, H. A., Aljabali, A. A. A., . . . Zacconi, F. C. (2020). Small interfering RNA for cancer treatment: overcoming hurdles in delivery. *Acta Pharm Sin B*, *10*(11), 2075-2109. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.005>
- Chaudhry, G. E., Md Akim, A., Sung, Y. Y., & Sifzizul, T. M. T. (2022). Cancer and apoptosis: The apoptotic activity of plant and marine natural products and their potential as targeted cancer therapeutics. *Front Pharmacol*, *13*, 842376. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.842376>
- Chen, S., Ben, S., Xin, J., Li, S., Zheng, R., Wang, H., . . . Wang, M. (2021). The biogenesis and biological function of PIWI-interacting RNA in cancer. *J Hematol Oncol*, *14*(1), 93. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01104-3>

- Chen, Y., Li, C., Pan, Y., Han, S., Feng, B., Gao, Y., . . . Chen, L. (2016). The Emerging Role and Promise of Long Noncoding RNAs in Lung Cancer Treatment. *Cell Physiol Biochem*, 38(6), 2194-2206. <https://doi.org/10.1159/000445575>
- Cooper, G. (2000). The Development and Causes of Cancer. In *The Cell: A Molecular Approach* (2nd edition ed.). Sinauer Associates.
- Cuciniello, R., Filosa, S., & Crispi, S. (2021). Novel approaches in cancer treatment: preclinical and clinical development of small non-coding RNA therapeutics. *J Exp Clin Cancer Res*, 40(1), 383. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-02193-1>
- Dana, H., Chalbatani, G. M., Mahmoodzadeh, H., Karimloo, R., Rezaiean, O., Moradzadeh, A., . . . Gharagouzlo, E. (2017). Molecular Mechanisms and Biological Functions of siRNA. *Int J Biomed Sci*, 13(2), 48-57.
- Deichmann, U. (2016). Epigenetics: The origins and evolution of a fashionable topic. *Dev Biol*, 416(1), 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.06.005>
- Diener, C., Keller, A., & Meese, E. (2022). Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends Genet*, 38(6), 613-626. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2022.02.006>
- Dong, Y., Siegwart, D. J., & Anderson, D. G. (2019). Strategies, design, and chemistry in siRNA delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev*, 144, 133-147. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.05.004>
- Duan, B., Zhao, Y., Bai, J., Wang, J., Duan, X., Luo, X., . . . Yang, S. (2022). Colorectal Cancer: An Overview. In J. Morgado-Diaz (Ed.), *Gastrointestinal Cancers*. Exon Publications.
- Eslami, M., Khazeni, S., Khanaghah, X. M., Asadi, M. H., Ansari, M. A., Garjan, J. H., . . . Nahand, J. S. (2023). MiRNA-related metastasis in oral cancer: moving and shaking. *Cancer Cell Int*, 23(1), 182. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03022-5>
- FDA. (2018). *FDA approves first-of-its kind targeted RNA-based therapy to treat a rare disease*. Retrieved 2024 from <https://www.fda.gov/news-events/press->

[announcements/fda-approves-first-its-kind-targeted-rna-based-therapy-treat-rare-disease](#)

- Fu, S., Chen, H. H., Cheng, P., Zhang, C. B., & Wu, Y. (2017). MiR-155 regulates oral squamous cell carcinoma Tca8113 cell proliferation, cycle, and apoptosis via regulating p27Kip1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21(5), 937-944.
- Galasso, M., Sana, M. E., & Volinia, S. (2010). Non-coding RNAs: a key to future personalized molecular therapy? *Genome Med*, 2(2), 12. <https://doi.org/10.1186/gm133>
- Grixti, J. M., & Ayers, D. (2020). Long noncoding RNAs and their link to cancer. *Noncoding RNA Res*, 5(2), 77-82. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2020.04.003>
- Gutschner, T., Hämmerle, M., & Diederichs, S. (2013). MALAT1 -- a paradigm for long noncoding RNA function in cancer. *J Mol Med (Berl)*, 91(7), 791-801. <https://doi.org/10.1007/s00109-013-1028-y>
- Hamilton, J. P. (2011). Epigenetics: principles and practice. *Dig Dis*, 29(2), 130-135. <https://doi.org/10.1159/000323874>
- Hammond, S. M. (2015). An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev*, 87, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.05.001>
- Han, L., Zhang, E. B., Yin, D. D., Kong, R., Xu, T. P., Chen, W. M., . . . De, W. (2015). Low expression of long noncoding RNA PANDAR predicts a poor prognosis of non-small cell lung cancer and affects cell apoptosis by regulating Bcl-2. *Cell Death Dis*, 6(2), e1665. <https://doi.org/10.1038/cddis.2015.30>
- Hoy, S. M. (2018). Patisiran: First Global Approval. *Drugs*, 78(15), 1625-1631. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0983-6>
- Iwasaki, Y. W., Siomi, M. C., & Siomi, H. (2015). PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annu Rev Biochem*, 84, 405-433. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034258>

- Jiang, J., Lu, Y., Zhang, F., Huang, J., Ren, X. L., & Zhang, R. (2021). The Emerging Roles of Long Noncoding RNAs as Hallmarks of Lung Cancer. *Front Oncol*, *11*, 761582. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.761582>
- Jiang, M. C., Ni, J. J., Cui, W. Y., Wang, B. Y., & Zhuo, W. (2019). Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. *Am J Cancer Res*, *9*(7), 1354-1366.
- Kornienko, A. E., Guenzl, P. M., Barlow, D. P., & Pauler, F. M. (2013). Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription. *BMC Biol*, *11*, 59. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-59>
- Lahiri, A., Maji, A., Potdar, P. D., Singh, N., Parikh, P., Bisht, B., . . . Paul, M. K. (2023). Lung cancer immunotherapy: progress, pitfalls, and promises. *Mol Cancer*, *22*(1), 40. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01740-y>
- Lam, J. K., Chow, M. Y., Zhang, Y., & Leung, S. W. (2015). siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. *Mol Ther Nucleic Acids*, *4*(9), e252. <https://doi.org/10.1038/mtna.2015.23>
- Lee, Y. S., & Dutta, A. (2009). MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*, *4*, 199-227. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.4.110807.092222>
- Li, J., Huang, H., Sun, L., Yang, M., Pan, C., Chen, W., . . . Song, E. (2009). MiR-21 indicates poor prognosis in tongue squamous cell carcinomas as an apoptosis inhibitor. *Clin Cancer Res*, *15*(12), 3998-4008. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-3053>
- Li, Y. (2021). Modern epigenetics methods in biological research. *Methods*, *187*, 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2020.06.022>
- Lin, J., Lin, Y., Fan, L., Kuang, W., Zheng, L., Wu, J., . . . Tan, J. (2016). miR-203 inhibits cell proliferation and promotes cisplatin induced cell death in tongue squamous cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, *473*(2), 382-387. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.02.105>

- Liu, X. H., Liu, Z. L., Sun, M., Liu, J., Wang, Z. X., & De, W. (2013). The long non-coding RNA HOTAIR indicates a poor prognosis and promotes metastasis in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer*, *13*, 464. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-13-464>
- Liu, Y., Dou, M., Song, X., Dong, Y., Liu, S., Liu, H., . . . Xu, W. (2019). The emerging role of the piRNA/piwi complex in cancer. *Mol Cancer*, *18*(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1052-9>
- Liu, Z. L., Chen, H. H., Zheng, L. L., Sun, L. P., & Shi, L. (2023). Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. *Signal Transduct Target Ther*, *8*(1), 198. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01460-1>
- Loewen, G., Jayawickramarajah, J., Zhuo, Y., & Shan, B. (2014). Functions of lncRNA HOTAIR in lung cancer. *J Hematol Oncol*, *7*, 90. <https://doi.org/10.1186/s13045-014-0090-4>
- Lyden, D., Ghajar, C. M., Correia, A. L., Aguirre-Ghiso, J. A., Cai, S., Rescigno, M., . . . Katipally, R. R. (2022). Metastasis. *Cancer Cell*, *40*(8), 787-791. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2022.07.010>
- Ma, L., Young, J., Prabhala, H., Pan, E., Mestdagh, P., Muth, D., . . . Weinberg, R. A. (2010). miR-9, a MYC/MYCN-activated microRNA, regulates E-cadherin and cancer metastasis. *Nat Cell Biol*, *12*(3), 247-256. <https://doi.org/10.1038/ncb2024>
- Mahmoodi Chalbatani, G., Dana, H., Gharagouzloo, E., Grijalvo, S., Eritja, R., Logsdon, C. D., . . . Marmari, V. (2019). Small interfering RNAs (siRNAs) in cancer therapy: a nano-based approach. *Int J Nanomedicine*, *14*, 3111-3128. <https://doi.org/10.2147/IJN.S200253>
- Mai, D., Zheng, Y., Guo, H., Ding, P., Bai, R., Li, M., . . . Lin, D. (2020). Serum piRNA-54265 is a New Biomarker for early detection and clinical surveillance of Human Colorectal Cancer. *Theranostics*, *10*(19), 8468-8478. <https://doi.org/10.7150/thno.46241>

- Marian, A. J. (2014). Sequencing your genome: what does it mean? *Methodist Debakey Cardiovasc J*, 10(1), 3-6. <https://doi.org/10.14797/mdcj-10-1-3>
- Mokarram, P., Niknam, M., Sadeghdoust, M., Aligolighasemabadi, F., Siri, M., Dastghaib, S., . . . Ashktorab, H. (2021). PIWI interacting RNAs perspectives: a new avenues in future cancer investigations. *Bioengineered*, 12(2), 10401-10419. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1997078>
- Moosavi, A., & Motevalizadeh Ardekani, A. (2016). Role of Epigenetics in Biology and Human Diseases. *Iran Biomed J*, 20(5), 246-258. <https://doi.org/10.22045/ibj.2016.01>
- Noble, D. (2015). Conrad Waddington and the origin of epigenetics. *J Exp Biol*, 218(Pt 6), 816-818. <https://doi.org/10.1242/jeb.120071>
- observatory, G. c. (2023). *Estimated number of new cases in 2020, World, both sexes, all ages*. [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode\\_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=7&group\\_cancer=1&include\\_nmssc=1&include\\_nmssc\\_other=1&half\\_pie=0&donut=0](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&half_pie=0&donut=0)
- Organization, W. H., & Cancer, I. A. f. R. o. (2023). *Top cancer per country, estimated age-standardized incidence rates (World) in 2020, both sexes, all ages (excl. NMSC)*. [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=cancer&mode\\_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=10&group\\_cancer=1&include\\_nmssc=0&include\\_nmssc\\_other=0&projection=natural-earth&color\\_palette=default&map\\_scale=quantile&map\\_nb\\_colors=5&continent=0&show\\_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=1&include_nmssc=0&include_nmssc_other=0&projection=natural-earth&color_palette=default&map_scale=quantile&map_nb_colors=5&continent=0&show_ranking=0&rotate=%255B10%252C0%255D)

- Orrantia-Borunda, E., Anchondo-Nuñez, P., Acuña-Aguilar, L., Gómez-Valles, F., & Ramírez-Valdespino, C. (2022). Subtypes of Breast Cancer. In M. HN (Ed.), *Breast Cancer*. Exon Publications.
- Osan, C., Chira, S., Nutu, A. M., Braicu, C., Baciut, M., Korban, S. S., & Berindan-Neagoe, I. (2021). The Connection between MicroRNAs and Oral Cancer Pathogenesis: Emerging Biomarkers in Oral Cancer Management. *Genes (Basel)*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/genes12121989>
- Padda, I., Mahtani, A., & Parmar, M. (2023). Small Interfering RNA (siRNA) Therapy. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Pan, H., Gu, L., Liu, B., Li, Y., Wang, Y., Bai, X., . . . Tang, Z. (2017). Tropomyosin-1 acts as a potential tumor suppressor in human oral squamous cell carcinoma. *PLoS One*, 12(2), e0168900. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168900>
- Pandey, D. P., & Picard, D. (2009). miR-22 inhibits estrogen signaling by directly targeting the estrogen receptor alpha mRNA. *Mol Cell Biol*, 29(13), 3783-3790. <https://doi.org/10.1128/MCB.01875-08>
- Parsa, N. (2012). Environmental factors inducing human cancers. *Iran J Public Health*, 41(11), 1-9.
- Pengnam, S., Plianwong, S., Yingyongnarongkul, B. E., Patrojanasophon, P., & Opanasopit, P. (2022). Delivery of small interfering RNAs by nanovesicles for cancer therapy. *Drug Metab Pharmacokinet*, 42, 100425. <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2021.100425>
- Pharmaceuticals, A. (2024). *Alnylam* ® *Pharmaceuticals*. Retrieved 2024 from <https://www.alnylam.com/>
- Ratti, M., Lampis, A., Ghidini, M., Salati, M., Mirchev, M. B., Valeri, N., & Hahne, J. C. (2020). MicroRNAs (miRNAs) and Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) as New Tools for Cancer Therapy: First Steps from Bench to Bedside. *Target Oncol*, 15(3), 261-278. <https://doi.org/10.1007/s11523-020-00717-x>

- Ray, S. K., & Mukherjee, S. (2023). Piwi-interacting RNAs (piRNAs) and Colorectal Carcinoma: Emerging Non-invasive diagnostic Biomarkers with Potential Therapeutic Target Based Clinical Implications. *Curr Mol Med*, 23(4), 300-311. <https://doi.org/10.2174/1566524022666220124102616>
- Rivera, C. (2015). Essentials of oral cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(9), 11884-11894.
- Roi, A., Roi, C. I., Andreescu, N. I., Riviş, M., Badea, I. D., Meszaros, N., . . . Iurciuc, S. (2020). Oral cancer histopathological subtypes in association with risk factors: a 5-year retrospective study. *Rom J Morphol Embryol*, 61(4), 1213-1220. <https://doi.org/10.47162/RJME.61.4.22>
- Sarisozen, C., Salzano, G., & Torchilin, V. P. (2015). Recent advances in siRNA delivery. *Biomol Concepts*, 6(5-6), 321-341. <https://doi.org/10.1515/bmc-2015-0019>
- Shi, Y., Liu, Z., Lin, Q., Luo, Q., Cen, Y., Li, J., . . . Gong, C. (2021). MiRNAs and Cancer: Key Link in Diagnosis and Therapy. *Genes (Basel)*, 12(8). <https://doi.org/10.3390/genes12081289>
- Siddiqui, F., Vaqar, S., & Siddiqui, A. (2023). Lung Cancer. In *StatPearls*.
- Singh, R., & Mo, Y. Y. (2013). Role of microRNAs in breast cancer. *Cancer Biol Ther*, 14(3), 201-212. <https://doi.org/10.4161/cbt.23296>
- Smolarz, B., Durczyński, A., Romanowicz, H., Szyłło, K., & Hogendorf, P. (2022). miRNAs in Cancer (Review of Literature). *Int J Mol Sci*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/ijms23052805>
- Suhail, Y., Cain, M. P., Vanaja, K., Kurywchak, P. A., Levchenko, A., Kalluri, R., & Kshitiz. (2019). Systems Biology of Cancer Metastasis. *Cell Syst*, 9(2), 109-127. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2019.07.003>
- Tariq, K., & Ghias, K. (2016). Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med*, 13(1), 120-135. <https://doi.org/10.28092/j.issn.2095-3941.2015.0103>

- Teleanu, R. I., Chircov, C., Grumezescu, A. M., & Teleanu, D. M. (2019). Tumor Angiogenesis and Anti-Angiogenic Strategies for Cancer Treatment. *J Clin Med*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/jcm9010084>
- Thai, A. A., Solomon, B. J., Sequist, L. V., Gainor, J. F., & Heist, R. S. (2021). Lung cancer. *Lancet*, 398(10299), 535-554. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00312-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00312-3)
- Tu, H. F., Chang, K. W., Cheng, H. W., & Liu, C. J. (2015). Upregulation of miR-372 and -373 associates with lymph node metastasis and poor prognosis of oral carcinomas. *Laryngoscope*, 125(11), E365-370. <https://doi.org/10.1002/lary.25464>
- Varsomics. (2020). *Mecanismos epigenéticos*. <https://blog.varsomics.com/epigenetica/>
- Waddington, C. H. (1956). Genetic Assimilation of the Bithorax Phenotype. *Evolution*, 10(1), 1-13. <https://doi.org/10.2307/2406091>
- Wang, D., & Farhana, A. (2023). Biochemistry, RNA Structure. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Wang, M., Sun, X., Wang, H., Xin, Y., & Jiao, W. (2019). Long non-coding RNAs in non-small cell lung cancer: functions and distinctions from other malignancies. *Transl Cancer Res*, 8(7), 2636-2653. <https://doi.org/10.21037/tcr.2019.10.22>
- Wang, Q. (2016). Cancer predisposition genes: molecular mechanisms and clinical impact on personalized cancer care: examples of Lynch and HBOC syndromes. *Acta Pharmacol Sin*, 37(2), 143-149. <https://doi.org/10.1038/aps.2015.89>
- Watkins, E. J. (2019). Overview of breast cancer. *JAAPA*, 32(10), 13-17. <https://doi.org/10.1097/01.JAA.0000580524.95733.3d>
- Webster, R. J., Giles, K. M., Price, K. J., Zhang, P. M., Mattick, J. S., & Leedman, P. J. (2009). Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human

- cancer cells by microRNA-7. *J Biol Chem*, 284(9), 5731-5741. <https://doi.org/10.1074/jbc.M804280200>
- Weng, W., Liu, N., Toiyama, Y., Kusunoki, M., Nagasaka, T., Fujiwara, T., . . . Goel, A. (2018). Novel evidence for a PIWI-interacting RNA (piRNA) as an oncogenic mediator of disease progression, and a potential prognostic biomarker in colorectal cancer. *Mol Cancer*, 17(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0767-3>
- Weston, A., & Harris, C. (2003). Multistage Carcinogenesis. In P. R. Kufe DW, Weichselbaum RR, et al., (Ed.), *Holland-Frei Cancer Medicine* (6th edition. ed.). BC Decker
- Wu, S., Powers, S., Zhu, W., & Hannun, Y. A. (2016). Substantial contribution of extrinsic risk factors to cancer development. *Nature*, 529(7584), 43-47. <https://doi.org/10.1038/nature16166>
- Wu, Y., Huang, C., Meng, X., & Li, J. (2015). Long Noncoding RNA MALAT1: Insights into its Biogenesis and Implications in Human Disease. *Curr Pharm Des*, 21(34), 5017-5028. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150724115625>
- Xu, D., Takeshita, F., Hino, Y., Fukunaga, S., Kudo, Y., Tamaki, A., . . . Tahara, H. (2011). miR-22 represses cancer progression by inducing cellular senescence. *J Cell Biol*, 193(2), 409-424. <https://doi.org/10.1083/jcb.201010100>
- Yan, H., & Bu, P. (2021). Non-coding RNA in cancer. *Essays Biochem*, 65(4), 625-639. <https://doi.org/10.1042/EBC20200032>
- Yang, S. J., Yang, S. Y., Wang, D. D., Chen, X., Shen, H. Y., Zhang, X. H., . . . Zhao, J. H. (2017). The miR-30 family: Versatile players in breast cancer. *Tumour Biol*, 39(3), 1010428317692204. <https://doi.org/10.1177/1010428317692204>
- Yin, J., Jiang, X. Y., Qi, W., Ji, C. G., Xie, X. L., Zhang, D. X., . . . Jiang, H. Q. (2017). piR-823 contributes to colorectal tumorigenesis by enhancing the transcriptional activity of HSF1. *Cancer Sci*, 108(9), 1746-1756. <https://doi.org/10.1111/cas.13300>

- Yu, Y., Xiao, J., & Hann, S. S. (2019). The emerging roles of PIWI-interacting RNA in human cancers. *Cancer Manag Res, 11*, 5895-5909. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S209300>
- Zhang, B., Li, Y., Hou, D., Shi, Q., Yang, S., & Li, Q. (2017). MicroRNA-375 Inhibits Growth and Enhances Radiosensitivity in Oral Squamous Cell Carcinoma by Targeting Insulin Like Growth Factor 1 Receptor. *Cell Physiol Biochem, 42*(5), 2105-2117. <https://doi.org/10.1159/000479913>
- Zhang, E., Li, W., Yin, D., De, W., Zhu, L., Sun, S., & Han, L. (2016). Erratum to: c-Myc-regulated long non-coding RNA H19 indicates a poor prognosis and affects cell proliferation in non-small-cell lung cancer. *Tumour Biol, 37*(4), 5653. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4347-5>
- Zhang, X., Wang, W., Zhu, W., Dong, J., Cheng, Y., Yin, Z., & Shen, F. (2019). Mechanisms and Functions of Long Non-Coding RNAs at Multiple Regulatory Levels. *Int J Mol Sci, 20*(22). <https://doi.org/10.3390/ijms20225573>
- Zhao, J., Hu, C., Chi, J., Li, J., Peng, C., Yun, X., . . . Zheng, X. (2016). miR-24 promotes the proliferation, migration and invasion in human tongue squamous cell carcinoma by targeting FBXW7. *Oncol Rep, 36*(2), 1143-1149. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4891>
- Zheng, X., Li, J., Peng, C., Zhao, J., Chi, J., Meng, X., . . . Li, Y. (2015). MicroRNA-24 induces cisplatin resistance by targeting PTEN in human tongue squamous cell carcinoma. *Oral Oncol, 51*(11), 998-1003. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2015.08.002>
- Zhou, J., Xie, H., Liu, J., Huang, R., Xiang, Y., Tian, D., & Bian, E. (2023). PIWI-interacting RNAs: Critical roles and therapeutic targets in cancer. *Cancer Lett, 562*, 216189. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216189>