



**Uema**  
UNIVERSIDADE ESTADUAL  
DO MARANHÃO

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – CAMPUS ZÉ DOCA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS LICENCIATURA**

**ELDEVAN DA SILVA BARBOSA**

**PREDIÇÃO DE RNAs LONGOS NÃO-CODIFICANTES QUE REGULAM  
microRNAs DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS EM CÂNCER DE PÊNIS E A SUA  
RELAÇÃO COM FATORES DE PIOR PROGNÓSTICO**

Zé Doca-MA  
2023

**ELDEVAN DA SILVA BARBOSA**

**PREDIÇÃO DE RNAs LONGOS NÃO-CODIFICANTES QUE REGULAM  
microRNAs DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS EM CÂNCER DE PÊNIS E A SUA  
RELAÇÃO COM FATORES DE PIOR PROGNÓSTICO**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências  
Biológicas Licenciatura da Universidade  
Estadual do Maranhão como requisito para a  
obtenção do grau Licenciado em Ciências  
Biológicas

Orientador (a): Profa. Dra. Jaqueline Diniz  
Pinho.

Barbosa, Eldevan da Silva.

Predição de RNAs longos não codificantes que regulam microRNAs diferencialmente expressos em câncer de pênis e a sua relação com fatores de pior prognóstico./ Eldevan da Silva Barbosa – Zé Doca (MA), 2023.

42f.

Monografia (Curso de Ciências Biológicas Licenciatura ) - Universidade Estadual do Maranhão, Campus Zé Doca,2023.

Orientadora: Profa. Dra. Jaqueline Diniz Pinho .

1. NCRNAs. 2.Carcinoma Peniano. 3.CERNAS . 4. Alvos terapêuticos.  
I.Título.

CDU: 616-006.6

Elaborado por Luciana de Araújo - CRB 13/445

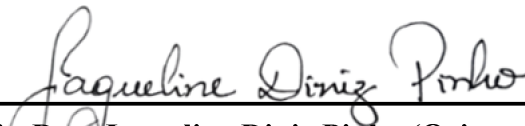
**ELDEVAN DA SILVA BARBOSA**

**PREDIÇÃO DE RNAs LONGOS NÃO-CODIFICANTES QUE REGULAM  
microRNAs DIFERENCIALMENTE EXPRESSOS EM CÂNCER DE PÊNIS E A SUA  
RELAÇÃO COM FATORES DE PIOR PROGNÓSTICO**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências  
Biológicas Licenciatura da Universidade  
Estadual do Maranhão – UEMA, para obtenção  
de grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 19 / 12 / 2023

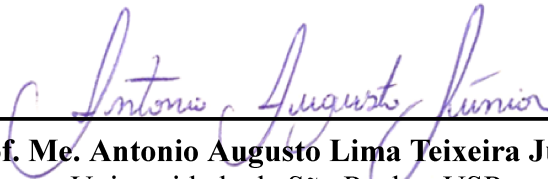
BANCA EXAMINADORA



---

**Profa. Dra. Jaqueline Diniz Pinho (Orientadora)**

Universidade Estadual do Maranhão  
UEMA - Campus Zé Doca



---

**Prof. Me. Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior**

Universidade de São Paulo - USP



---

**Profa. Esp. Rakel Gomes Mendonça**

Universidade Estadual do Maranhão  
UEMA - Campus Zé Doca

Dedico este trabalho ao Grupo de  
Pesquisa em Saúde

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao universo por todas as infinitas possibilidades que me proporciona. Reconheço a minha dedicação incansável no desenvolvimento da minha carreira acadêmica, superando diariamente desafios e mostrando-me uma pessoa extraordinária. Expresso minha gratidão aos meus pais, Elisvan Barbosa por sempre me apoiar, e em especial à minha mãe, Maria Núbia, por seu apoio incondicional em todos os momentos. Sua presença constante e seu comprometimento em contribuir para o meu crescimento tornam você a pessoa mais especial do meu mundo.

Também gostaria de agradecer à minha irmã, Mariana Emanuelle, por estar sempre ao meu lado, apoiando-me e lembrando-me de que sou capaz de conquistar qualquer coisa neste mundo. À minha amiga Sandra Cristina (*in memoriam*), que me ensinou muito sobre os valores da vida, e sempre torceu muito por mim, saiba que você sempre estará presente no meu coração e seus ensinamentos nunca serão esquecidos.

Às minhas professoras do ensino fundamental Aricles e Eulina, que me apoiaram e mostraram meu potencial. À minha orientadora e mãe científica Jaqueline Diniz Pinho, por acreditar no meu potencial, sempre proporcionando novas experiências no mundo científico, além de dedicar seu valioso tempo e conhecimento me orientando com paciência e dedicação, sem dúvidas você possui grande importância na minha carreira, obrigado por tudo.

Deixo minha gratidão às minhas terapeutas, Ariane Brandão, Sheila Buchele e Lígia Rebonato, que tanto me auxiliam a reconhecer-me e enfrentar os desafios.

A Universidade Estadual do Maranhão, ao corpo docente, à direção e à administração da instituição que me proporcionaram a oportunidade de vislumbrar hoje um horizonte superior. Reconheço a presença de mérito e ética incutidos nesta jornada, que me enchem de confiança.

Agradeço aos professores que me acompanharam ao longo do curso e que, com empenho, se dedicam à arte de ensinar.

Ao Grupo de Pesquisa em Saúde, no qual, me proporciona um ambiente acolhedor, cheio de aprendizagem.

Aos meus amigos quero agradecer pelo apoio, força, amor e assistência inabalável, em especial Ana Gabrielly, Larissa e Fabiolla, vocês são uns dos maiores presentes que o universo poderia me oferecer, sendo peças fundamentais para meu crescimento pessoal e profissional. Externo ainda minha gratidão à banca examinadora por sua valiosa contribuição na melhoria deste trabalho e por sua disponibilidade.

*“É no conhecimento que existe uma chance de libertação”*

(Leandro Karnal)

**RESUMO:** Os RNAs longos não codificantes (lncRNAs) pertencem a classe dos RNAs não codificantes (ncRNAs), com capacidade de interagir com outras biomoléculas. Os lncRNAs podem estar desregulados em câncer agindo como supressores de tumor ou oncogenes. Tendo em vista que não há relatos na literatura quanto a participação dessas biomoléculas em câncer de pênis (CaPe), o presente estudo teve como objetivo identificar através de ferramentas *in silico*, lncRNAs que regulam miRNAs diferencialmente expressos, avaliados em amostras de pacientes com CaPe e a sua relação com fatores de pior prognóstico. Participaram desta pesquisa 08 pacientes com diagnóstico de CaPe, e como amostra controle 04 pacientes com fimose. As amostras foram submetidas a análise de *microarray* na Plataforma Affymetrix, a fim de obter a análise diferencial dos microRNAs (miRNAs). Foram utilizadas ferramentas *in silico* para identificação dos lncRNAs que regulam os miRNAs, assim como a validação dos dados de expressão. Selecionamos 22 miRNAs diferencialmente expressos em características clínico-patológicas para pesquisa dos lncRNAs que os regulam. Dentre os miRNAs selecionados, quatro (miR-23b-3p, miR-455-3p, miR-145-5p e miR-200c-3p) são regulados por nove lncRNAs (GAS5, NEAT1, MALAT1, SNHG16, KCNQ1OT1, MEG3, LINC00667, XIST e SNHG22). Quanto à validação dos alvos, foi realizada a comparação com Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (CCECP) na ferramenta UALCAN, em que verificou-se que apenas miR-570-5p possui expressão diferente entre CaPe e CCECP. Utilizando a mesma ferramenta realizou-se a análise de expressão dos lncRNAs, identificando assim que MEG3 e XIST possuem baixa expressão em CCECP. Esses dados constituem uma contribuição significativa, fornecendo *insights* que apontam para a necessidade de investigações futuras, em CaPe, visando esclarecer de forma mais aprofundada o papel dos lncRNAs nessa neoplasia maligna. Além disso, os dados apontam para potenciais biomarcadores e alvos terapêuticos para CaPe.

**Palavras-chave:** ncRNAs, carcinoma peniano, ceRNAs, alvos terapêuticos



**ABSTRACT:** Non-coding long RNAs (lncRNAs) belong to the class of non-coding RNAs (ncRNAs) with the ability to interact with other biomolecules. LncRNAs can be dysregulated in cancer, acting as either tumor suppressors or oncogenes. Given the lack of literature reports on the involvement of these biomolecules in penile cancer (CaPe), the present study aimed to identify, through in silico tools, lncRNAs that regulate differentially expressed miRNAs evaluated in samples from patients with CaPe and their relationship with worse prognosis factors. Eight patients diagnosed with CaPe participated in this study, with four patients with phimosis serving as control samples. The samples underwent microarray analysis on the Affymetrix platform to obtain the differential analysis of microRNAs (miRNAs). In silico tools were used to identify lncRNAs that regulate miRNAs, as well as to validate expression data. We selected 22 differentially expressed miRNAs based on clinical-pathological characteristics for the investigation of the lncRNAs that regulate them. Among the selected miRNAs, four (miR-23b-3p, miR-455-3p, miR-145-5p, and miR-200c-3p) are regulated by nine lncRNAs (GAS5, NEAT1, MALAT1, SNHG16, KCNQ1OT1, MEG3, LINC00667, XIST, and SNHG22). Regarding target validation, a comparison with Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck (SCCHN) in the UALCAN tool revealed that only miR-570-5p has different expression between CaPe and SCCHN. Using the same tool, the expression analysis of lncRNAs was performed, identifying that MEG3 and XIST have low expression in SCCHN. These data constitute a significant contribution, providing insights that underscore the need for future investigations in CaPe to elucidate the role of lncRNAs more thoroughly in this malignant neoplasm. Additionally, the data suggest potential biomarkers and therapeutic targets for CaPe.

**Keywords:** ncRNAs, biomarkers, ceRNAs, therapeutic targets

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 01-</b> Classificação de lncRNAs com base em suas origens genômicas	8
<b>Figura 02-</b> Interação entre lncRNA com microRNA	9
<b>Figura 03-</b> lncRNAs diferencialmente expressos em amostras Normais x Tumorais em Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço ( CCECP)	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01-</b> Sistema de classificação TNM .....	18
<b>Tabela 02-</b> Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes com câncer de pênis.....	25
<b>Tabela 03</b> - miRNAs identificados no <i>microarray</i> diferencialmente expressos em pacientes com câncer de pênis.....	26
<b>Tabela 04</b> - miRNAs alvos de lncRNAs, identificados nas ferramentas ENCORI e RNAcentral.....	28
<b>Tabela 05</b> - Expressão de miRNAs em amostras de Câncer de Pênis (CaPe) e em Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço ( CCECP).....	28

## LISTA DE SIGLAS

ADP - Adenocarcinoma Ductal Pancreático  
AKT - *Proteína quinase B*  
ANLN- *Anilina*  
ASOs - *Oligonucleotídeos antisense*  
ATG12 - *Autofagia 12*  
CaP - Câncer de próstata  
CaPe - Câncer de pênis  
CB - Câncer de bexiga  
CC - Câncer cervical  
CCA - Colangiocarcinoma  
CCECP - Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço  
CCEO - Carcinoma de células escamosas orais  
CCR - Câncer colorretal  
CE - Câncer de esôfago  
CF- Câncer de fígado  
CG - Câncer gastrointestinal  
CM - Câncer de mama  
CPT - Câncer papilífero de tireoide  
CR - Câncer renal  
CRISPR - *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*  
GAS5 - *Growth Arrest Specific 5*  
HIV - *Human Immunodeficiency Virus* (Vírus da imunodeficiência humana)  
HPV - *Human Papillomavirus* (Papilomavírus Humano)  
IARC - *International Agency for Research on Cancer*  
INK4a - *Imunomarcador*  
IST - Infecção sexualmente transmissíveis  
KCNQ1OT1 - *Opposite Strand/Antisense Transcript 1*  
Ki-67 - *Antígeno KI-67*  
LINC00667 - *Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 667*  
lncRNA - RNA longo não codificantes de proteínas  
MALAT1 - *Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1*

MEG3 - *Maternally Expressed 3*  
miRNAs - microRNA  
MMP-9 - *Matriz metalloproteinase 9*  
mRNA - RNA mensageiro  
ncRNA - RNA não codificantes de proteínas  
NEAT1 - *Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1*  
p16 - Proteína p16  
p53 - Fosfoproteína p53  
PCBP2 - *Poly(RC) Binding Protein 2*  
PDK1 - *Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1*  
PNI - Invasão Perineural  
RBPs - Proteínas de ligação ao RNA  
RNAi - RNA de interferência  
SCC-ag - Antígeno de células escamosas  
SED - Sobrevida específica da doença  
SG - Sobrevida Global  
SNHG16 - *Small Nucleolar RNA Host Gene 16*  
SNHG22 - *Small Nucleolar RNA Host Gene 22*  
TCGA - The Cancer Genome Atlas  
XIST - *X Inactive Specific Transcript*  
ZEB1 - *Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1. Objetivo Geral:.....	16
2.2. Objetivos específicos:.....	16
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
3.1 Epidemiologia do Câncer de Pênis.....	16
3.2 Características Histopatológicas.....	17
3.3 Tratamento do câncer de pênis.....	19
3.4 Bases moleculares do câncer.....	19
3.5 RNAs não codificantes em Câncer de Pênis.....	20
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>22</b>
4.1 Tipo de estudo e abordagem.....	22
4.2 Casuística.....	23
4.3 Critérios de inclusão.....	23
4.4 Critérios de não inclusão.....	23
4.5 Variáveis clínico-epidemiológica.....	24
4.6 Análise molecular.....	24
4.7 Identificação dos miRNAs diferencialmente expressos.....	24
4.8 Validação dos alvos.....	25
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>25</b>
5.1 Caracterização dos pacientes.....	25
5.2 Identificação dos miRNAs diferencialmente expressos.....	27
5.3 Identificação dos lncRNAs.....	28
5.4 Validação dos alvos.....	29
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
<b>7. LIMITAÇÕES.....</b>	<b>34</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>35</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dos diferentes tipos tumorais que acometem o sexo biológico masculino, o câncer de pênis (CaPe) é um dos que se destacam pelo seu alto índice de letalidade (Lucca, 2020), em especial em países em desenvolvimento (Vieira *et al.*, 2020). O Brasil tem uma das maiores taxas de incidência desta neoplasia no mundo, esse tipo de tumor representa 2% de todos os tipos de cânceres que atinge a população masculina, sendo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste (INCA, 2021).

A infecção por Papilomavírus Humano (HPV) é um importante fator de risco para o CaPe, no qual a prevalência de infecção pelo vírus varia de 25 a 85%, dependendo do tipo de amostra e do método de detecção de HPV (Bernhard *et al.*, 2021). O HPV-16 é o tipo mais frequentemente detectado em cânceres HPV-positivos (68,7%) e o HPV-6 foi o segundo tipo mais comum de câncer invasivo (3,7%) (Alemany *et al.*, 2016).

Em relação aos fatores de pior prognóstico, a metástase linfonodal é o principal fator de redução de sobrevida global de pacientes com CaPe invasivo, além disso, fatores como grau, tipo histológico, embolização linfovascular e estágio e invasão perineural, foram relacionados a um pior prognóstico da doença (Calmon *et al.*, 2011).

A linfadenectomia inguinal é considerada terapêutica para pacientes com metástase em linfonodos, e profilática para aqueles com tumor primário com pelo menos um fator de risco para envolvimento de linfonodos. Embora seja uma técnica muito utilizada para o tratamento desta neoplasia maligna, esse procedimento é muito invasivo, causando diversas consequências negativas para os pacientes (Aita *et al.*, 2016; Koifman, 2022). Apesar do CaPe ser um problema de saúde global, principalmente em países em desenvolvimento, o conhecimento sobre a etiologia e o perfil genômico do CaPe é bastante limitado, sobretudo devido à exiguidade de casos em países desenvolvidos.

Atualmente, tem sido amplamente aceito em vários tipos de câncer que em diferentes estágios podem possuir perfis de expressão de microRNA (miRNAs) individuais, e esses detêm grande potencial em serem biomarcadores moleculares de diagnóstico, e também podem revelar novas vias de sinalização relacionadas com a carcinogênese e progressão de alvos moleculares terapêuticos (Zhang *et al.*, 2015).

Os miRNAs são pequenos RNAs de fita simples de 18 a 25 nucleotídeos de comprimento, essas biomoléculas exercem diversas funções biológicas, como; desenvolvimento, diferenciação de células-tronco e identidade tecidual através da regulação negativa de transcritos de RNA mensageiro (mRNA) (López-Urrutia *et al.*, 2019). Além disso, os miRNAs podem participar de forma indireta no desenvolvimento do câncer,

regulando funções celulares a fim de induzir a respostas a estímulos externos, tais como: hipóxia e estresse oxidativo (Tuli *et al.*, 2022). Há relato na literatura que demonstra que um único miRNA pode regular componentes de múltiplas vias. Além disso, estas biomoléculas podem ser reguladas por outras RNAs não codificantes (ncRNAs), como os RNAs longos não codificantes (lncRNAs) (Lu *et al.*, 2018).

Os lncRNAs desempenham um papel crucial na regulação gênica, interagindo com os miRNAs no citoplasma (Ma *et al.*, 2018). A hipótese do RNA competidor endógeno (ceRNA) sugere que alguns lncRNAs atuam como esponjas de miRNAs, atenuando os efeitos sobre os mRNAs. Muitos lncRNAs possuem locais de ligação específicos para miRNAs, regulando com precisão a expressão de genes que codificam proteínas. Ao funcionar como ceRNAs, os lncRNAs sequestram miRNAs, impedindo sua regulação sobre os mRNAs-alvo. Essas interações revelam uma complexidade significativa na regulação gênica (Seo *et al.*, 2020).

A interação lncRNA-miRNAs têm impactos significativos no câncer quando estas moléculas encontram-se desreguladas. Um exemplo elucidativo dessa interação é observado no câncer de cólon, onde o lncRNA H19 se encontra superexpresso em tecidos e linhagens celulares tumorais, enquanto a expressão de miR-138 se encontra notavelmente reduzida em comparação com tecidos normais. Esses achados foram validados em ensaios de silenciamento de H19, que resultou em um aumento significativo da expressão de miR-138 (Yang *et al.*, 2021).

Essa complexa interação evidencia não apenas a sofisticação da rede regulatória envolvendo lncRNAs e miRNAs, mas também sugere implicações importantes na patogênese do câncer, enriquecendo o entendimento das bases moleculares subjacentes a essa doença. É imperativo investigar minuciosamente a interação dessas biomoléculas em relação ao CaPe, dada a lacuna substancial de informações que persistem nos processos moleculares que contribuem para o desenvolvimento dessa neoplasia maligna (Salazar, 2022). Neste contexto, a pesquisa com CaPe é essencial para preencher essas lacunas de conhecimento, permitindo uma compreensão mais completa dos mecanismos envolvidos no CaPe e, potencialmente, identificar biomarcadores e alvos terapêuticos promissores.



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral:

Identificar RNAs longos não-codificantes que regulam miRNAs diferencialmente expressos em amostras de pacientes com câncer de pênis.

### 2.2. Objetivos específicos:

- Analisar o perfil de expressão de miRNAs por microarranjos em amostras tumorais e não tumorais de um grupo externo com fimose;
- Relacionar a expressão dos miRNAs com fatores de pior prognóstico (metástase linfonodal, invasão perineural e estadiamento);
- Analisar por bioinformática os RNAs longos não codificantes que regulam os miRNAs diferencialmente expressos;
- Validar a expressão gênica dos alvos observados através de dados do The Cancer Genome Atlas (TCGA) em Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (CCECP);
- Comparar os dados do TCGA com o que tem descrito na literatura.

## 3. REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.1 Epidemiologia do Câncer de Pênis

Segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), em 2020, o CaPe apresentou cerca de 36.068 casos e 13.211 óbitos, ocupando a 30ª posição em incidência e a 31ª em número de óbitos comparado com outros tipos tumorais. Na Europa e nos EUA, a incidência dessa patologia é de 0,1 a 0,9 por 100.000 homens (Vinueza-Obando *et al.*, 2022), a incidência é considerada baixa em comparação com países em desenvolvimento, como África, Ásia e América do Sul, onde o CaPe pode representar até 10% a 20% de todas as neoplasias malignas em homens (Engelsgjerd; Lagrange 2022).

Em território brasileiro, o CaPe configura aproximadamente 2,1% de todos os tumores em homens, registrando portanto uma incidência de 5,7 casos por 100.000 homens por ano (Montes; García-Perdomo, 2017). Coelho *et al.*, (2018) apontam que essa neoplasia maligna está mais presente nas regiões Norte e Nordeste do país, devido a desigualdade social e a

extrema pobreza desses locais, Ressalta-se ainda que o estado do Maranhão apresenta o maior número de casos desse tipo tumoral, com incidência de 6,15/100.000. De acordo com o Ministério da Saúde, no período de 1992 a 2007, foram realizadas 6.716 penectomia no Brasil, sendo 419 somente no estado do Maranhão.

Cabe evidenciar que as altas taxas de CaPe está relacionada com diversos fatores de risco que podem desencadear esse câncer, a saber: histórico de fimose, balanite, inflamação crônica, trauma peniano, falta de circuncisão, uso de tabaco, líquen escleroso, higiene precária, zoofilia e histórico de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST), especialmente a infecção pelo HPV (Engelsgjerd; Lagrange 2022; Vieira *et al.*, 2020).

Sobre a infecção do HPV em CaPe, a frequência de casos positivos varia de acordo com a região, a Ásia possui uma taxa de 41,9% , já na África a taxa aumenta para 87,5% (Sand *et al.*, 2018). Em uma revisão sistemática e metanálise, foi observado que o DNA do HPV está presente em 42,0% dos casos de CaPe no Brasil, com maior prevalência do HPV16, seguido pelo HPV18, HPV11, HPV6 e HPV45 (Peder *et al.*, 2018). Além disso, é observado que, as taxas elevadas de infecção pelo HPV em casos de CaPe são mais predominantes nas regiões Nordeste (79%) e Norte (54%) (Libânio *et al.*, 2022). Em um trabalho realizado no Maranhão, a frequência de HPV em homens com CaPe foi superior a 80% (Pinho *et al.*, 2020). Essas disparidades regionais podem ser explicadas em grande parte por fatores socioeconômicos, como acesso limitado à educação sexual, serviços de saúde precários e conscientização insuficiente sobre o HPV (Hirth, 2018).

### **3.2 Características Histopatológicas**

O CaPe pode ser identificado pela presença de lesões localizadas na região da glândula ou no prepúcio. As lesões costumam surgir como massas exofíticas cinza esbranquiçadas, ou podem ser planas de cor avermelhada como massas ulceradas. Estes tumores possuem crescimento lento nas laterais e ao longo da superfície da pele do órgão e frequentemente cobrem toda a glândula ou prepúcio antes de invadir o corpo e a haste (Engelsgjerd; Lagrange 2022).

Para a determinação do estágio de desenvolvimento tumoral, emprega-se a classificação TNM (Tumor, Linfonodos, Metástase), conforme a última revisão 8ª Edição da publicação da *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* em 2017 conforme tabela 01 (AMIN, 2017). O sistema TNM avalia o tamanho e a extensão do tumor primário, os linfonodos afetados e a presença de metástases à distância (Reis *et al.*, 2010).

**Tabela 01-** Sistema de classificação TNM

<b>T</b>	<b>Tamanho do tumor e grau de Infiltração</b>
Tx	Tumor primário não pode ser avaliado
T0	Não há evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
Ta	Carcinoma não invasivo verrucoso.
T1	Tumor invade o tecido conectivo subepitelial T1a. Tumor invade o tecido conectivo subepitelial sem invasão linfovascular e não é pouco diferenciado ou indiferenciado T1b. Tumor invade o tecido conectivo subepitelial com invasão linfo vascular ou é pouco diferenciado ou indiferenciado
T2	Tumor invade o corpo esponjoso com ou sem invasão da uretra
T3	Tumor invade o corpo cavernoso com ou sem invasão da uretra
T4	Tumor invade estruturas adjacentes
<b>N</b>	<b>Situação dos linfonodos regionais</b>
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais.
N1	Metástase em um único linfonodo regional superficial.
N2	Metástase em linfonodos múltiplos ou bilaterais inguinais superficiais.
N3	Metástase em linfonodos regionais inguinais profundos ou pélvicos, uni ou bilaterais.
<b>M</b>	<b>Metástases à distância</b>
Mx	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada
M0	Sem evidências de metástases à distância
M1	Metástases à distância

Fonte: *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*

Os fatores de pior prognóstico de maior impacto na diminuição da sobrevida de pacientes com CaPe, é a presença e extensão do envolvimento dos linfonodos inguinais (Aita, *et al.*, 2016). Cerca de 10-25% dos pacientes com exame físico negativo apresentam micrometástases na análise histopatológica da linfadectomia inguinal (Azevedo *et al.*, 2021). A invasão perineural é um outro fator de pior prognóstico para CaPe, estudos indicam que pacientes com CaPe possuem maior risco de desenvolver metástases de linfonodos inguinais (MLIs) (Gonzaga-Silva *et al.*, 2012).

### 3.3 Tratamento do câncer de pênis

O tratamento utilizado para pacientes com CaPe com metástase incluem esquemas com paclitaxel, ifosfamida e cisplatina (TIP). Todavia, a eficácia desses agentes foi recentemente contestada e as taxas de sobrevida global não excedem doze meses (Vinuesa-Obando *et al.*, 2022). As recomendações atuais para o tratamento cirúrgico permitem margens tumorais negativas muito estreitas, desde que uma excisão completa do tumor seja alcançada, em casos de tumores superficiais a glândula deve ser poupada, isso pode ser alcançado usando quimioterapia ou imunoterapia focal, ablação a laser, radioterapia ou cirurgia, como a penectomia parcial ou total (Walther Hackenberg, *et al.*, 2018).

A penectomia parcial é indicada no CaPe envolvendo a haste que não pode ser tratada de forma minimamente invasiva, abrange a ressecção proximal ao tumor e a terminalização da uretra e dos corpos. Esse tratamento, oferece baixas taxas de recorrência de menos de 10% e permite uma melhor preservação da função peniana, permanecendo assim o padrão de tratamento para pacientes com doença contida na haste peniana (O'Neill *et al.*, 2020). Já a penectomia total é indicada na maioria dos tumores penianos em estágio de T3 e T4, embora também possa ser necessária no estágio T2, a penectomia total envolve a excisão do pênis ou próximo ao ligamento suspensor, conservando os corpos cavernosos proximais (O'Neill *et al.*, 2020). Apesar da penectomia ser considerada a terapia padrão ouro para o câncer de pênis, seus efeitos físicos e psicossociais são devastadores (Vieira *et al.*, 2020).

### 3.4 Bases moleculares do câncer

Diversos fatores podem influenciar a célula cancerígena a não sofrer apoptose, fazendo com que as vias, quando desreguladas, mantenham o funcionamento caótico, desestabilizando o microambiente celular, e proporcionando o crescimento desenfreado com funções e genoma diferentes das células normais (Fouad; Aanei 2017). Lucca (2020), relata que o processo de carcinogênese é caracterizado pelo crescimento desordenado das células tumorais, além de adquirirem particularidades que as possibilitam o processo de proliferação, assim migram para diferentes regiões do corpo humano, dando início a metástase.

Estudos em diversos tipos de câncer têm demonstrado que alterações epigenéticas podem desempenhar um papel importante na progressão da doença (Copeland *et al.*, 2010; Nebbioso *et al.*, 2012; Kuasne *et al.*, 2013). Todavia, a compreensão das alterações moleculares, tanto genéticas quanto epigenéticas, do CaPe ainda estão em estágio inicial.

As modificações epigenéticas são alterações na qual podem ser revertidas através da metilação e/ou desmetilação do DNA e modificações nas histonas, portanto não estão

associadas a alterações na sequência do DNA (Baylin; Jones 2011; Herceg *et al.*, 2011). Dentre as modificações epigenéticas, destaca-se os RNAs não codificantes (ncRNAs), os quais são importantes biomoléculas que desempenham um papel fundamental na regulação da expressão gênica . A desregulação dos ncRNAs pode levar ao desenvolvimento de doenças, como o câncer (Musavi Shenasa *et al.*, 2019).

Os grupos de ncRNAs têm funções distintas na regulação gênica e na organização da cromatina (Wang e Chang, 2011). Muitos ncRNAs ainda não possuem função definida. Mas alguns deles podem atuar tanto como oncogenes quanto como supressores de tumor, desempenhando um papel crucial no controle do início e da progressão do câncer. Adicionalmente, muitos ncRNAs podem ser liberados das células cancerígenas para o sangue ou para a urina, e isso tem implicações significativas na área diagnóstica e prognóstica, no qual, podem servir como marcadores valiosos para o diagnóstico de câncer ou indicadores importantes para prever o prognóstico da patologia (Yan; Bu, 2021). Portanto, a compreensão do papel da desregulação dos ncRNAs em CaPe é importante para o desenvolvimento de novas terapias.

### **3.5 RNAs não codificantes em Câncer de Pênis**

Os ncRNAs por muitos anos foram vistos como “DNA lixo” essas biomoléculas são classificadas conforme o seu tamanho, quando apresentam até 200 nucleotídeos de comprimento, são considerados pequenos RNAs não codificantes (sncRNA). Enquanto aqueles com mais de 200 nucleotídeos são denominados de RNAs longos não codificantes (lncRNA). Destaca-se dentre os sncRNAs, os miRNAs, piRNAs e os snoRNAs (Small nucleolar RNAs) (Zhou *et al.*, 2021; Pinho *et al.*, 2022).

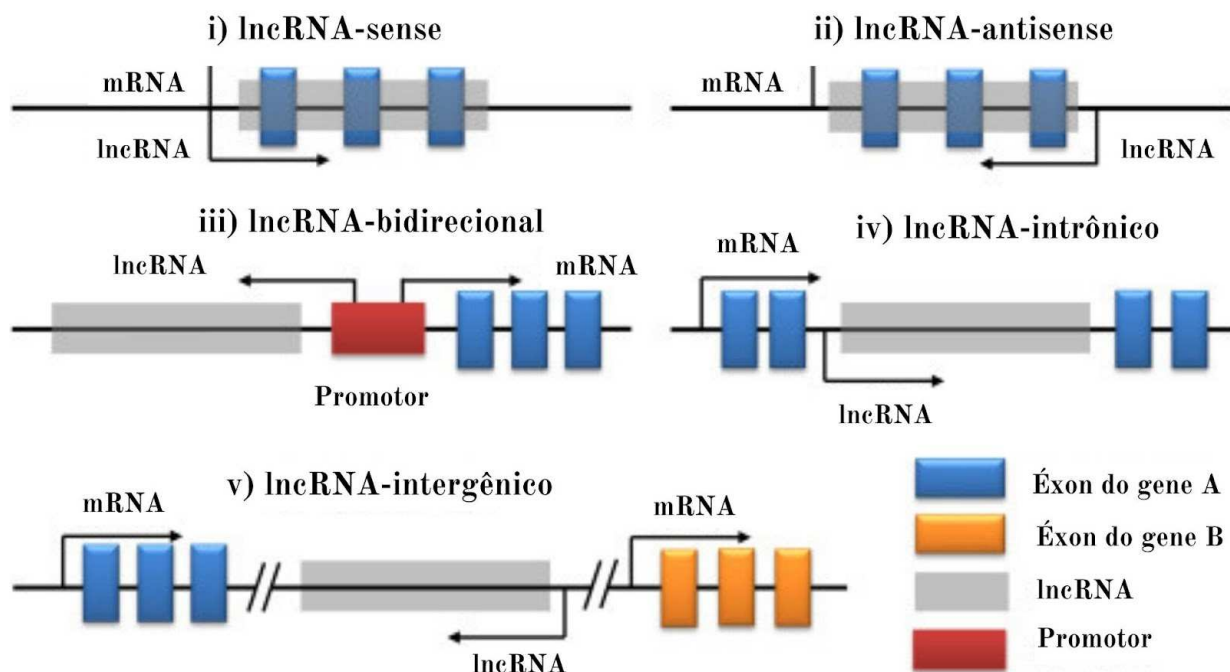
Estudos sugerem que os ncRNAs, apresentam interesse na pesquisa molecular, devido ao seu potencial como biomarcador, em várias doenças humanas, inclusive no câncer (Dsouza *et al.*, 2021). Verifica-se que diversos miRNAs participam diretamente do processo patológico do câncer, atuando como oncogenes (oncomiRs) ou supressores tumorais (tsmiRs) (Geng *et al.*, 2022).

Os lncRNAs, por sua vez, quando desregulados podem afetar processos celulares como proliferação, migração, invasão, transição epitelial-mesenquimal (EMT) e apoptose (Chen *et al.*, 2017; Matos *et al.*, 2022). Os lncRNAs podem estar envolvidos na regulação epigenética da expressão de proteínas e desempenhar função em uma série de processos fisiológicos e patológicos, como a carcinogênese de vários cânceres humanos (Hosseini *et al.*, 2017).

Os lncRNAs são transcritos pela RNA polimerase II e compartilham semelhanças estruturais com os mRNAs, incluindo uma capa de metil-citosina na extremidade 5' e uma cauda de poli-adenina (poli-A) na extremidade 3'. Essa estrutura sugere que os lncRNAs podem ser transcritos e processados de maneira semelhante aos mRNAs (Zhang *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2021).

Essas biomoléculas, podem ser classificadas com base em sua posição em relação aos genes codificadores de proteínas, o que nos oferece uma perspectiva de suas funções e origens. Essas classificações incluem: i) lncRNA-sense: transcritos no mesmo sentido dos genes codificadores de proteínas. ii) lncRNA-antisense: transcritos na fita oposta aos genes codificadores de proteínas. iii) lncRNA-bidirecional: transcritos a partir de regiões próximas a genes codificadores de proteínas e em uma direção oposta. iv) lncRNA-intrônicos: São transcritos dentro dos íntrons de genes codificadores de proteínas. v) lncRNA-intergênicos: São lncRNAs que estão localizados na região entre dois genes codificadores de proteínas, em regiões intergênicas (Figura 1) (Dahariya *et al.*, 2019).

**Figura 1-** Classificação de lncRNAs com base em suas origens genômicas.

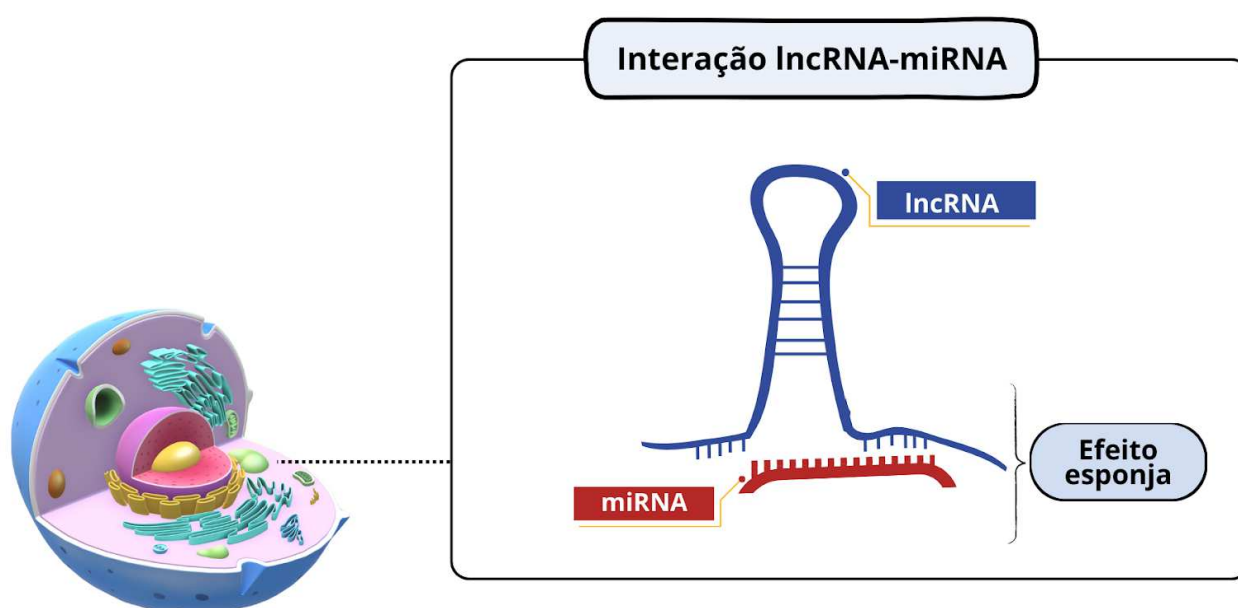


Fonte: Adaptação de Liu *et al.*, (2021)

Ghasemi *et al.*, (2020) mostram em seu estudo que os lncRNAs interagem com miRNAs, mRNAs, proteínas e DNA genômico, onde atuam como esponjas de miRNAs, regulando sua expressão. O efeito esponja ocorre quando um lncRNA se liga ao miRNAs,

inibindo a interação dos miRNAs com seus alvos no mRNA como demonstrado na figura 2 (Salmena *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2018).

**Figura 2-** Interação entre lncRNA com microRNA



Fonte: Elaborado pelo autor

Em relação aos trabalhos com lncRNAs em CaPe, até o momento apenas o estudo de Macedo *et al.*, (2020) relatam a participação de lncRNAs (LINC00226 e LINC00221) nessa neoplasia maligna. O que mostra uma lacuna de informações sobre essa biomolécula nesse tipo tumoral. Neste contexto, a presente pesquisa torna-se importante para compreender os mecanismos envolvidos na carcinogênese em CaPe.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de estudo e abordagem

O presente estudo é uma pesquisa básica, que tem como finalidade adquirir conhecimento sobre a interação dos lncRNAs e miRNAs em CaPe. Nesse contexto, foi conduzida uma análise *in silico*, caracterizando a pesquisa como de natureza

exploratória-descritiva. Além disso, foi utilizada uma abordagem quantitativa, visando uma compreensão mais abrangente. Isso contribuiu para a construção de uma base sólida de conhecimento na área.

#### **4.2 Casuística**

Os dados apresentados são oriundos do projeto guarda-chuva intitulado "IDENTIFICAÇÃO DO PERFIL DE EXPRESSÃO DE microRNAs EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM CÂNCER DE PÊNIS E SUA RELAÇÃO COM A INFECÇÃO POR HPV", aprovado pelo CNPq (MCTI/CNPq Nº 01/2016 – Universal – Faixa A). Além disso, uma parte significativa desses dados fizeram parte da Iniciação Científica, financiada pela FAPEMA.

Neste estudo foram selecionados 08 pacientes com diagnóstico anatomopatológico de câncer de pênis, que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos, nos hospitais de referência em São Luís-MA (Hospital Universitário Presidente Dutra – HU-UFMA e Hospital Aldenora Belo -HCAB), no período de agosto de 2016 a agosto de 2017. Para amostras controles foram coletadas 04 amostras de pacientes com diagnóstico de fimose, mas com nenhum indício de malignidade. Esse projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal do Maranhão, sob o nº do CAAE: 43774215.7.0000.5086 e parecer nº 1.093.435.

#### **4.3 Critérios de inclusão**

Os pacientes diagnosticados com câncer de pênis nos Hospitais Aldenora Belo e Universitário Presidente Dutra, em São Luís, Maranhão, e que foram submetidos a intervenção cirúrgica como parte do tratamento. A participação na pesquisa exigiu o consentimento dos pacientes, manifestado através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em conformidade com a Resolução n.º 196/96 e suas normas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS.

#### **4.4 Critérios de não inclusão**

Foram excluídos do estudo aqueles pacientes que não atenderam aos critérios de inclusão mencionados ou recusaram assinar o TCLE. Além disso, não foram incluídos aqueles que já haviam iniciado tratamento quimioterápico ou radioterápico. O material tumoral de cada participante foi codificado para preservar a confidencialidade de seus dados pessoais.



#### 4.5 Variáveis clínico-epidemiológica

Os pacientes que concordaram em participar deste estudo foram submetidos a uma entrevista conduzida por um profissional de saúde. Nessa entrevista, foi utilizado um instrumento de pesquisa contendo perguntas sobre idade, profissão e estado civil. Em relação às características clínicas, as informações foram obtidas a partir dos laudos histopatológicos, incluindo a localização da lesão (glande, corpo ou prepúcio), o tipo histológico e o estadiamento clínico-patológico.

#### 4.6 Análise molecular

Para a análise molecular, foram utilizadas amostras tumorais provenientes de espécimes cirúrgicas arquivadas em blocos de parafina (FFPE) obtidas dos registros do Setor de Patologia do HU-UFMA e do HCAB. As lâminas foram selecionadas com base nos pacientes que atendiam aos critérios de inclusão. Um patologista revisou as amostras e escolheu os casos que continham pelo menos 70% de células neoplásicas. Os blocos de parafina referentes às lâminas selecionadas foram então seccionados em cortes de 10 micrômetros utilizando um micrótomo. Esses cortes foram acondicionados em tubos estéreis e encaminhados para posterior extração de RNA.

O *Kit High Pure miRNAs Isolation Kit* (Roche Applied Science, UK), foi utilizado para realizar a análise da expressão dos miRNAs, conforme especificações do fabricante. Após a extração foi realizada a leitura da concentração de RNA no equipamento Nanodrop, e foram consideradas para análise molecular as amostras que apresentasse uma razão A260nm/280nm com valor entre 1,8-2,1 e que apresentasse um input maior que 130 ng em 8ul.

#### 4.7 Identificação dos miRNAs diferencialmente expressos

Para identificação dos miRNAs diferencialmente expressos, foi utilizado a ferramenta *Transcriptome Analysis Console* (TAC) v. 3.0. Foram considerados miRNAs diferencialmente expressos com *fold change*  $\geq 2,0$  e  $\leq -2$  e *p-value*  $< 0.01$ .

A análise do *microarray* foi realizada no Núcleo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal do Pará. Os dados gerados do *microarray* foram normalizados através do programa *Affymetrix Command Expression Console Software* e/ou *Transcriptome Analysis Console* (TAC) v. 3.0.

Para análise dos RNAs longos não codificantes que regulam os miRNAs avaliados foi utilizado o miRcode (<http://www.mircode.org/>), ENCORI (<https://starbase.sysu.edu.cn/>) e RNAcentral (<https://rnacentral.org/>). Para análise no ENCORI foram considerados aqueles lncRNAs presentes em mais de dois tipos de cânceres e que apresentaram *p*-valor  $\leq 0,05$ . Foi considerado para estudo aqueles lncRNAs identificados nas três ferramentas supracitadas.

#### **4.8 Validação dos alvos**

Para validação dos alvos foram feitas buscas dos níveis de expressão destes lncRNAs através da ferramenta ualcan (<http://ualcan.path.uab.edu/>) utilizando os dados de CCECP (Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço). Como forma de comparar esses dados foi feita uma busca na literatura através de artigos em revistas indexadas, como: PubMed, Science Direct e Google Scholar.

### **5. RESULTADOS**

#### **5.1 Caracterização dos pacientes**

Na tabela 02, estão elencadas as características clínico-epidemiológicas dos participantes do estudo. A idade média dos pacientes foi de 68 anos, com um desvio padrão aproximado de 18,65. A idade mínima registrada foi de 45 anos, enquanto a máxima foi de 103 anos. Vale ressaltar que a maioria dos participantes eram casados. Além disso, todos foram diagnosticados com carcinoma epidermóide e subtipo histológico usual. Dos oito pacientes desta pesquisa, quatro foram diagnosticados com metástase linfonodal.

**Tabela 02-**Caracterização clínico-epidemiológica dos pacientes com câncer de pênis.

Variáveis	Casos							
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8
<b>Idade</b>	46	45	62	103	80	76	54	78
<b>Profissão</b>	Lavrador	Lavrador	Aposentado	Aposentado	Aposentado	Lavrador	Mecânico	Aposentado
<b>Estado civil</b>	Casado	Casado	Casado	Casado	Casado	Casado	Casado	Solteiro
<b>Topografia do Tumor</b>	Glande	Glande	Glande	Glande e Corpo	Glande	Glande e Corpo	Sulco-Balano Prepucial	Glande
<b>Tipo histológico</b>	Usual	Usual	Usual	Usual	Usual	Usual	Usual	Usual
<b>pT</b>	pT2	pT3	pT3	pT3	pT1a	pT3	pT2	pT1a
<b>Tipo de Cirurgia</b>	Penectomia Parcial	Penectomia Total	Penectomia Total	Penectomia Parcial	Penectomia Parcial	Penectomia Total	Penectomia Parcial	Penectomia Parcial
<b>Linfadenectomia</b>	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Não
<b>Metástase</b>	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Não
<b>Invasão Perineural</b>	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não

Fonte: Elaborado pelo autor

## 5.2 Identificação dos miRNAs diferencialmente expressos

Foram analisados a expressão de miRNAs em amostras de CaPe, no qual foi comparado as seguintes variáveis: Tumor x Normal; T1 x T2; T3 x T1; T3 x T2, Metástase linfonodal (presente x ausente) e Invasão Perineural (PNI) (presente x ausente). Para este trabalho, selecionamos os 5 miRNAs que se destacaram quanto aos valores de *fold change* e *p-valor*, como demonstrado na tabela 03.

**Tabela 03-** miRNAs identificados no *microarray* diferencialmente expressos em pacientes com câncer de pênis.

<b>Nível de expressão Tumor x Normal</b>			
<b>miRNAs</b>	<b><i>fold change</i></b>	<b><i>p-valor</i></b>	<b>Cromossomo</b>
miR-4689	13,3	1,27E-05	Chr1
miR-6808-5p	11,11	0,0052	Chr1
miR-6785-5p	9,79	0,0056	Chr17
miR-23b-3p	-6,71	5,02E-05	Chr9
miR-145-5p	-17,28	7,33E-06	Chr5
<b>Nível de expressão T1 x T2</b>			
miR-6819-5p	10,15	0,0019	Chr22
miR-4674	9,19	0,0002	Chr9
miR-6808-5p	9,12	3,38E-05	Chr1
miR-6861-3p	-3,16	0,0118	Chr12
miR-570-5p	-2,97	0,0007	Chr3
<b>Nível de expressão T3 x T1</b>			
miR-6819-5p	17,08	0,0005	Chr22
miR-200c-3p	12,7	0,0098	Chr12
miR-6808-5p	11,89	2,20E-06	Chr1
miR-3613-5p	-22	0,0045	Chr13
miR-455-3p	-12,51	0,0176	Chr9
<b>Nível de expressão T3 x T2</b>			

miR-6760-5p	5,05	0,0006	Chr12
miR-6822-5p	4,28	0,0086	Chr3
miR-6758-5p	4,48	0,0319	Chr12
miR-572	-2,59	0,0095	Chr4
miR-3921	-4,16	0,0417	Chr3
<b>Invasão Perineural (presente x ausente)</b>			
miR-455-3p	22,27	0,0015	Chr9
miR-3613-5p	15,01	0,0003	Chr13
miR-1281	6,9	0,002	Chr22
miR-3197	-10,31	0,0012	Chr21
miR-6824-5p	-9,62	0,0004	Chr3
<b>Metástase Linfonodal (presente x ausente)</b>			
miR-455-3p	24,63	0,0049	Chr9
miR-1281	7,85	0,0098	Chr22
miR-3162-3p	4,67	0,0058	Chr11
miR-6768-5p	-11,62	0,0018	Chr16
miR-6819-5p	-12,46	0,0026	Chr22

Fonte: Elaborado pelo autor

### 5.3 Identificação dos lncRNAs

Para identificação dos lncRNAs, foram analisados os 22 miRNAs que se destacaram quanto aos valores de *fold change* e *p-valor* em amostras de CaPe, conforme abordado na Tabela 3. Para seleção dos lncRNAs foram utilizados aqueles lncRNAs que regulavam um destes 22 miRNAs, e que possuíam informações nas ferramentas selecionadas para esta pesquisa (ENCORI, miRcode e RNA central). De acordo com os critérios de inclusão utilizados, foi possível identificar 9 lncRNAs regulando 4 miRNA. Foi feita a busca na literatura, das informações observadas na análise *in silico*, para melhor confiabilidade dos dados, conforme tabela 04.

**Tabela 04-** miRNAs alvos de lncRNAs, identificados nas ferramentas miRcode, ENCORI e RNAcentral

<b>lncRNAs</b>	<b>miRNAs</b>	<b>Expressão dos lncRNAs</b>	<b>Referências</b>
GAS5	miR-23b-3p	Alta expressão	Hao <i>et al.</i> , 2020
NEAT1	miR-23b-3p	Alta expressão	Wang <i>et al.</i> , 2022
	miR-455-3p	Alta expressão	Liu <i>et al.</i> , 2021
MALAT1	miR-145-5p	Alta expressão	Zhang <i>et al.</i> , 2021
	miR-23b-3p	Alta expressão	Yiren <i>et al.</i> , 2017
	miR-200c-3p	Alta expressão	Zhuo <i>et al.</i> , 2018
SNHG16	miR-23b-3p	Alta expressão	Jing <i>et al.</i> , 2020
	miR-455-3p	Alta expressão	Liu <i>et al.</i> , 2021
KCNQ1OT1	miR-145-5p	Alta expressão	Zhong <i>et al.</i> , 2021
MEG3	miR-145-5p	Alta expressão	Zhang <i>et al.</i> , 2022
LINC00667	miR-200c-3p	Alta expressão	Li <i>et al.</i> , 2021
XIST	miR-200c-3p	Alta expressão	Zhang <i>et al.</i> , 2020
	miR-455-3p	Alta expressão	Li; Sun; Zhu, 2020
SNHG22	miR-200c-3p	Alta expressão	Mao <i>et al.</i> , 2021

Fonte: Elaborado pelo autor

#### 5.4 Validação dos alvos

Os alvos foram validados na ferramenta UALCAN utilizando os dados de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (CCECP), visto que esse é o tipo de câncer que apresenta maior similaridade quanto ao perfil mutacional. No qual foi verificado que apenas miR-570-5p possui expressão diferente entre CaPe e CCECP (tabela 05).

**Tabela 05-** Expressão de miRNAs em amostras de Câncer de Pênis (CaPe) e em Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (CCECP)

<b>CÂNCER DE PÊNIS</b>		<b>CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO</b>
<b>miRNAs</b>	<b>Expressão</b>	<b>Expressão</b>
miR-6808-5p	Alta expressão	Alta expressão
miR-23b-3p	Baixa expressão	Baixa expressão

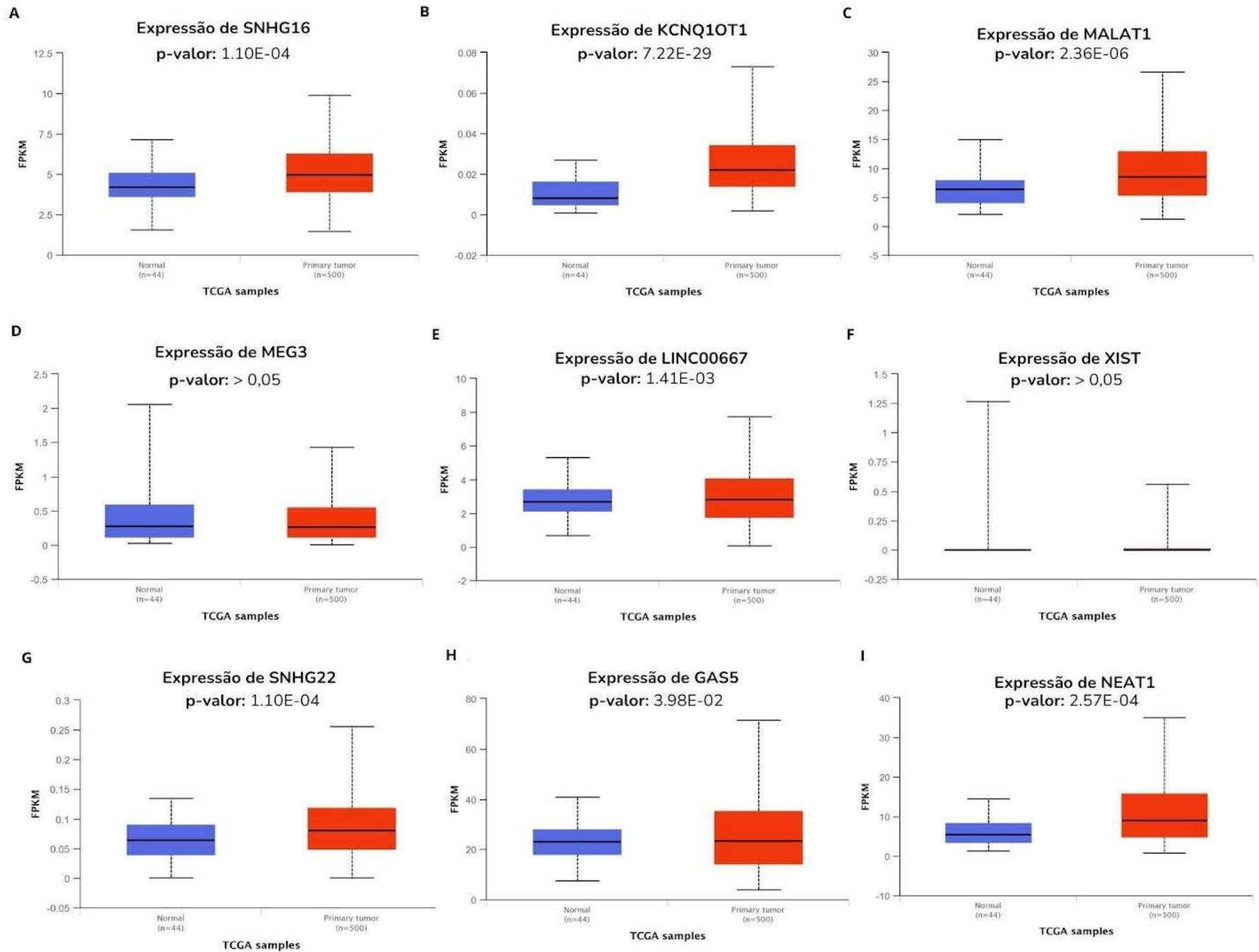
miR-145-5p	Baixa expressão	Baixa expressão
miR-4674	Alta expressão	Alta expressão
miR-570-5p	Baixa expressão	Alta expressão
miR-200c-3p	Alta expressão	Alta expressão
miR-3613-5p	Alta expressão	Alta expressão
miR-455-3p	Alta expressão	Alta expressão

---

Fonte: Elaborado pelo autor

Quanto aos lncRNAs, nota-se que dois deles possuem baixa expressão, quando comparado com tumor x normal em CCECP, a saber: MEG3 e XIST (figura 03), embora não houvesse diferença estatística.

**Figura 03-** lncRNAs diferencialmente expressos em amostras Normais x Tumorais em Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço ( CCECP)





Fonte: <https://ualcan.path.uab.edu/cgi-bin/ualcan-res-lnc.pl> - **A-** SNHG16 super expresso; **B-** KCNQ1OT1 super expresso; **C-** MALAT1 super expresso; **D-** MEG3 baixo expresso (não apresenta diferença estatística); **E-** LINC00667 super expresso; **F-** XIST baixo expresso (não apresenta diferença estatística); **G-** SNHG22 super expresso; **H-** GAS5 super expresso e **I-** NEAT1 super expresso.

## 6. DISCUSSÃO

Os dados elencados neste trabalho demonstram que os miRNAs encontram-se associados a diferentes fatores de pior prognóstico em CaPe. Alguns destes miRNAs já foram observados alterados em outros tipos de tumores, a exemplo de miR-455-3p, o qual se comportou como um oncomiR neste estudo, em especial em pacientes com metástase linfonodal, dados semelhantes foram observados no estudo de Wang *et al.*, (2021), o qual trabalhou com câncer colorretal.

Nesta pesquisa também observamos miRNAs com comportamento de tsmiR, como o miR-145-5p, cujos dados corroboram com os trabalhos realizados anteriormente com CaPe (Pinho *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2015) e com outros tumores, como câncer de bexiga, câncer de mama, câncer cervical, câncer renal e câncer gastrointestinal (Cheng *et al.*, 2022).

Ressaltamos também a participação de miRNAs com expressão alterada em pacientes com invasão perineural, no qual foram identificados 3 miRNAs com expressão aumentada e 2 com baixa expressão (tabela 03). Dentre os miRNAs superexpressos o miR-3613-5p, já foi abordado em adenocarcinoma pulmonar, promovendo a proliferação celular e atuando como um regulador chave das vias NF- $\kappa$ B/RELA (He *et al.*, 2020).

Na identificação dos lncRNAs, foi possível notar que miR-23b-3p é regulado por 4 lncRNAs (GAS5, NEAT1, MALAT1 e SNHG16) (tabela 04). De acordo com a literatura, MALAT1 desempenha um papel crucial na resistência quimioterápica do câncer gástrico (CG), atuando como um ceRNA de miR-23b-3p. Esse mecanismo promove a autofagia e inibe a regulação de miR-23b-3p sobre a proteína alvo ATG12. Isso, por sua vez, resulta em um aumento nos níveis de ATG12, contribuindo para a resistência quimioterápica associada à autofagia (Jing *et al.*, 2020).

Quanto ao NEAT1, essa biomolécula já foi relatada em diversos cânceres, a saber: câncer de próstata (Wen *et al.*, 2020), câncer colorretal (Zhang *et al.*, 2018), câncer de fígado (Kou *et al.*, 2020), câncer papilífero de tireoide (Sun *et al.*, 2021) e câncer de esôfago (Du; Xu; Yin, 2022). A alta expressão de NEAT1 em células cancerígenas promove o crescimento celular, migração e invasão e inibe a apoptose celular (Li *et al.*, 2021).

O miR-145-5p é alvo de regulação por três lncRNAs (MEG3, MALAT1 e KCNQ1OT1) (tabela 04). MALAT1 atua como um ceRNA do miR-145-5p, essa interação

inibe a função de supressão tumoral deste miRNAs, resultando, por conseguinte, na promoção da proliferação celular, migração e invasão em câncer de próstata (CaP) (Zhang *et al.*, 2021). KCNQ1OT1 também é capaz de alvejar miR-145-5p em câncer gástrico (CG) (Zhong *et al.*, 2021). Em câncer de bexiga (CB), atua como ceRNA de miR-145-5p, o qual regula PCBP2, este por sua vez, já foi correlacionado com fatores de pior prognóstico em adenocarcinoma ductal pancreático (ADP) (Wang *et al.*, 2019).

miR-200c-3p também foi um dos miRNAs regulado por lncRNAs, de acordo com esta pesquisa. Zhuo *et al.*, (2018), abordaram que a via MALAT1/miR-200c-3p/ZEB1, quando alterada, pode estar envolvida em mecanismos que desencadeiam a metástase em ADP. Um outro lncRNA que regula miR-200c-3p é o LINC00667, quando alvejado miR-200c-3p fica impedido de regular o gene piruvato desidrogenase quinase 1 (PDK1), em colangiocarcinoma (CCA) (Li *et al.*, 2021).

XIST é outro ceRNA que interfere na expressão de miR-200c-3p, onde promove a quimiorresistência de células de câncer de mama (CM) à doxorrubicina, cujo silenciamento interfere na regulação da proteína alvo anilina (ANLN) (Zhang *et al.*, 2020). Além disso, verifica-se na pesquisa de Mao *et al.*, (2021), que miR-200c-3p é regulado por SNHG22, em que aumenta a expressão de Notch1 (notch receptor 1), promovendo assim a proliferação e invasão de células de CG.

miR-455-3p é alvejado por 3 lncRNAs, evidências mostram que o eixo XIST/miR-455-3p/BTG2 inibe a progressão maligna do carcinoma de células escamosas orais (CCEO) (Li; Sun; Zhu, 2020).

Em relação à validação dos dados de expressão de miRNAs, com o uso da ferramenta Ualcan, foi possível observar uma alta similaridade dos dados de expressão, nos dois tipos de câncer. Ressaltamos também que a comparação dos dados de expressão de expressão dos lncRNAs, assim como a interação dos lncRNAs e microRNAs, conforme observado na literatura em outros tipos de tumores, demonstram que a ferramenta utilizada pode fornecer uma precisão nos dados, em especial quando na tomada de decisão da escolha de algum biomarcador para ser analisado *in vitro*.

Essas análises, possibilitam novos *insights* para trabalhos futuros que visam identificar a relação lncRNA-miRNAs em CaPe, o que possibilita um melhor entendimento no processo de carcinogênese, além de poderem ser potenciais alvos terapêuticos. Pesquisas recentes mostram que os lncRNAs podem ser utilizados em 4 formas de terapias para o controle de câncer: a saber: oligonucleotídeos antisense (ASOs), CRISPR/Cas9, transfecção por interferência de RNA (RNAi) e nanomedicina (Jiang *et al.*, 2019).

O silenciamento de MALAT1 por ASOs inibiu significativamente o crescimento tumoral e a metástase em câncer de mama (Arun *et al.*, 2015) e câncer de pulmão (Gutschner *et al.*, 2013). Em outro estudo foi verificado que o CRISPR/Cas9 direcionado ao lncRNA GMAN inibiu a metástase de células de CG e melhorou a sobrevida global em camundongos (Zhuo *et al.*, 2019). Portanto, esses achados sugerem fortemente que esses lncRNAs são potenciais biomarcadores de metástase e precisam ser investigados no CaPe. No presente estudo identificamos que 22 miRNAs encontram-se desregulados em CaPe, desses miRNAs quatro são regulados por nove lncRNAs. Na validação dos alvos observou-se que seis lncRNAs possuem expressão aumentada e dois apresentam baixa expressão em amostras de tecido de CCECP, na comparação dos miRNAs em tecidos de CaPe e CCECP foi notado que apenas miR-570-5p possui expressão diferente.

## 7. LIMITAÇÕES

Ressalta-se que o presente estudo possui algumas limitações. Primeiro: alguns miRNAs não foram relatados anteriormente em outros tipos tumorais o que impossibilita a comparação de dados e descrição de cada processo biológico realizado pelos mesmos. Segundo: a análise da expressão dos lncRNAs foi conduzida exclusivamente com dados de CCECP, o que pode introduzir um viés nas conclusões relacionadas ao CaPe. Terceiro: a análise *in silico* pode reduzir a validação sólida das biomoléculas elencadas neste trabalho.

## 8. CONCLUSÃO

Estes dados fornecem novos *insights* para que futuras pesquisas sejam realizadas, sobretudo com CaPe, a fim de elucidar o papel dos lncRNAs neste tipo tumoral. Muitos dos lncRNAs abordados nesta análise *in silico* já foram relatados anteriormente em outras neoplasias malignas o que reafirma seu potencial como biomarcadores e alvos terapêuticos para o CaPe. Além disso, esse é o primeiro estudo que realizou uma predição de lncRNAs neste tipo tumoral, observou-se a associação dessas biomoléculas com os processos carcinogênicos penianos e fatores de pior prognóstico. Evidencia-se a necessidade de análises *in vitro* considerando um maior número de amostras para poder validar os dados obtidos através das ferramentas de bioinformática.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- AITA, G. A. et al. Tumor histologic grade is the most important prognostic factor in patients with penile cancer and clinically negative lymph nodes not submitted to regional lymphadenectomy. **International braz j urol**, v. 42, p. 1136–1143, 2016.
- ALEMANY, L. et al. Role of Human Papillomavirus in Penile Carcinomas Worldwide. **European Urology**, v. 69, n. 5, p. 953–961, maio 2016.
- ARUN, G. et al. Differentiation of mammary tumors and reduction in metastasis upon *Malat1* lncRNA loss. **Genes & Development**, v. 30, n. 1, p. 34–51, 23 dez. 2015.
- AMIN, M.B., et al. AJCC Cancer Staging Manual. ed.8 Cham, Switzerland: **Springer**; 2017.
- AZEVEDO, R. A. et al. Use of flaps in inguinal lymphadenectomy in metastatic penile cancer. **International braz j urol**, v. 47, p. 1108–1119, 1 out. 2021.
- BAYLIN, S. B.; JONES, P. A. A decade of exploring the cancer epigenome — biological and translational implications. **Nature Reviews Cancer**, v. 11, n. 10, p. 726–734, 23 set. 2011.
- BERNHARD, M. C. et al. The HPV and p63 Status in Penile Cancer Are Linked with the Infiltration and Therapeutic Availability of Neutrophils. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 20, n. 2, p. 423–437, 1 fev. 2021.
- CALMON, M.F et al. Penile Carcinoma: Risk Factors and Molecular Alterations. **The Scientific World Journal**, v. 11, p. 269–282, 3 fev. 2011.
- CHEN, L. et al. Analysis of cancer-related lncRNAs using gene ontology and KEGG pathways. **Artificial Intelligence in Medicine**, v. 76, p. 27–36, 1 fev. 2017.
- CHENG, X. et al. mir-145-5p is a suppressor of colorectal cancer at early stage, while promotes colorectal cancer metastasis at late stage through regulating AKT signaling evoked EMT-mediated anoikis. **BMC Cancer**, v. 22, n. 1, 8 nov. 2022.
- COELHO, R. W. P. et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally? **BMC urology**, v. 18, n. 1, p. 50, 29 maio 2018.
- COPELAND, R. A.; OLHAVA, E. J.; SCOTT, M. P. Targeting epigenetic enzymes for drug discovery. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 14, n. 4, p. 505–510, ago. 2010.
- DAHARIYA, S. et al. Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells. **Molecular Immunology**, v. 112, p. 82–92, ago. 2019.
- DSOUZA, V. L. et al. Small nucleolar RNA and its potential role in breast cancer – A comprehensive review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, v. 1875, n. 1, p. 188501, jan. 2021.
- DU, W.; XU, P.; YIN, H. LncRNA NEAT1 regulates the growth, migration, and invasion of the human esophageal cancer cells via the miR-377/E2F3 axis. **Acta Biochimica Polonica**, 17 out. 2022.

ENGELSGJERD, J. S.; LAGRANGE, C. A. **Penile Cancer**. (2022). Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763105/>>. Acesso em: 11 março 2023.

FOUAD, Y. A.; AANEI, C. Revisiting the hallmarks of cancer. **American journal of cancer research**, v. 7, n. 5, p. 1016–1036, 2017.

GENG, T. et al. Comprehensive Analysis Identifies Ameloblastin-Related Competitive Endogenous RNA as a Prognostic Biomarker for Testicular Germ Cell Tumour. **Cancers**, v. 14, n. 8, p. 1870, 1 jan. 2022.

GHASEMI, T. et al. lncRNA-miRNAs-mRNA interaction network for colorectal cancer; An in silico analysis. **Computational Biology and Chemistry**, v. 89, p. 107370, dez. 2020.

GONZAGA-SILVA, L. F. et al. Locally advanced penile carcinoma: classic emasculation or testis-sparing surgery? **International Braz J Urol: Official Journal of the Brazilian Society of Urology**, v. 38, n. 6, p. 750–759; discussion 759, 2012.

GUTSCHNER, T. et al. The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells. **Cancer Research**, v. 73, n. 3, p. 1180–1189, 1 fev. 2013.

HAO, X. et al. Down-regulation of lncRNA Gas5 promotes hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation by regulating KCNK3 expression. **European Journal of Pharmacology**, v. 889, p. 173618, 15 dez. 2020.

HE, T. et al. MicroRNA-3613-5p Promotes Lung Adenocarcinoma Cell Proliferation through a RELA and AKT/MAPK Positive Feedback Loop. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 22, p. 572–583, dez. 2020.

HERCEG, Z.; HERNANDEZ-VARGAS, H. New concepts of old epigenetic phenomena and their implications for selecting specific cell populations for epigenomic research. **Epigenomics**, v. 3, n. 4, p. 383–386, ago. 2011.

HIRTH, J. Disparities in HPV vaccination rates and HPV prevalence in the United States: a review of the literature. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 15, n. 1, p. 146–155, 6 set. 2018.

HOSSEINI, E. S. et al. Dysregulated expression of long noncoding RNAs in gynecologic cancers. **Molecular Cancer**, v. 16, n. 1, 21 jun. 2017.

INCA (Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva). **Câncer de pênis**. Brasil: Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-penis>> Acesso em: 27 maio. 2023.

JIANG, M.-C. et al. Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. **American Journal of Cancer Research**, v. 9, n. 7, p. 1354–1366, 1 jul. 2019.

JING, Z. et al. SNGH16 regulates cell autophagy to promote Sorafenib Resistance through suppressing miR-23b-3p via sponging EGR1 in hepatocellular carcinoma. **Cancer Medicine**, v. 9, n. 12, p. 4324–4338, 1 jun. 2020.

KOIFMAN, L. Risk factors for inguinal lymph node metastasis in patients with penile cancer. **International braz j urol**, v. 48, p. 314–315, 11 mar. 2022.

KOU, J.-T. . et al. LncRNA NEAT1 regulates proliferation, apoptosis and invasion of liver cancer. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 24, n. 8, p. 4152–4160, 1 abr. 2020.

KUASNE, H. et al. Epigenetic Mechanisms in Penile Carcinoma. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 6, p. 10791–10808, 23 maio 2013.

LI, J. et al. Yin Yang 1-induced LINC00667 up-regulates pyruvate dehydrogenase kinase 1 to promote proliferation, migration and invasion of cholangiocarcinoma cells by sponging miR-200c-3p. **Human Cell**, v. 34, n. 1, p. 187–200, 1 jan. 2021.

LI, K. et al. NEAT1 as a competing endogenous RNA in tumorigenesis of various cancers: Role, mechanism and therapeutic potential. **International Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 13, p. 3428–3440, 2021.

LI, Q.; SUN, Q.; ZHU, B. LncRNA XIST Inhibits the Progression of Oral Squamous Cell Carcinoma via Sponging miR-455-3p/BTG2 Axis. **OncoTargets and Therapy**, v. Volume 13, p. 11211–11220, nov. 2020.

LIBÂNIO et al. **PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA PREVALÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM CÂNCER DE PÊNIS NO BRASIL: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA E METANÁLISE.** (2022).

Disponível em:

<[https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/4639/1/Artigo%20TCC%20Eduarda%20e%20Ju%cc%81lia%20Versa%cc%83o%2022\\_05\\_22%20%284%29.pdf](https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/bitstream/123456789/4639/1/Artigo%20TCC%20Eduarda%20e%20Ju%cc%81lia%20Versa%cc%83o%2022_05_22%20%284%29.pdf)>. Acesso em: 11 março 2023.

LIU, P. et al. LncRNA SNHG16 promotes pulmonary fibrosis by targeting miR-455-3p to regulate the Notch2 pathway. **Respiratory Research**, v. 22, n. 1, 6 fev. 2021.

LIU, Y. et al. Long non-coding RNA NEAT1 promotes pulmonary fibrosis by regulating the microRNA-455-3p/SMAD3 axis. **Molecular Medicine Reports**, v. 23, n. 3, 20 jan. 2021.

LIU, Y. et al. Long non-coding RNAs: Biogenesis, functions, and clinical significance in gastric cancer. *Molecular Therapy - Oncolytics*, v. 23, p. 458–476, dez. 2021.

LÓPEZ-URRUTIA, E. et al. Crosstalk Between Long Non-coding RNAs, Micro-RNAs and mRNAs: Deciphering Molecular Mechanisms of Master Regulators in Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 9, 25 jul. 2019.

LU, T.X., ROTHENBERG, M.E. MicroRNA. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 141(4), 1202–1207. 2018.

LUCCA, Renato Mendes Rossi de. **Panorama genético do carcinoma epidermóide de pênis** . 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MA, Y. et al. Membrane-lipid associated lncRNA: A new regulator in cancer signaling. **Cancer Letters**, v. 419, p. 27–29, 1 abr. 2018.

MACEDO, J. et al. Genomic profiling reveals the pivotal role of hrHPV driving copy number and gene expression alterations, including mRNA downregulation of TP53 and RB1 in penile cancer. **Molecular Carcinogenesis**, v. 59, n. 6, p. 604–617, 1 jun. 2020.

MAO, X. et al. ELK4-mediated lncRNA SNHG22 promotes gastric cancer progression through interacting with EZH2 and regulating miR-200c-3p/Notch1 axis. **Cell Death & Disease**, v. 12, n. 11, p. 957, 18 out. 2021.

MATOS, A. G. de M. et al. Genetics of head and neck cancer: Advances in molecular research. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 10, p. e391111032924–e391111032924, 5 ago. 2022.

MONTES C, C. E.; GARCÍA-PERDOMO, H. A. **Incidence of penile cancer worldwide: systematic review and meta-analysis**. Revista Panamericana de Salud Pública, p. 1–10, 2017.

MUSAVI SHENAS, M. H. et al. MicroRNAs and signaling networks involved in epithelial–mesenchymal transition. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 5, p. 5775–5785, 11 nov. 2018.

NEBBIOSO, A. et al. Trials with “epigenetic” drugs: An update. **Molecular Oncology**, v. 6, n. 6, p. 657–682, 1 dez. 2012.

O’NEILL, S. et al. The role of penectomy in penile cancer—evolving paradigms. **Translational Andrology and Urology**, v. 9, n. 6, p. 3191–3194, dez. 2020.

PEDER, L. D. DE et al. Association between Human Papillomavirus and Non-cervical Genital Cancers in Brazil: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP**, v. 19, n. 9, p. 2359–2371, 26 set. 2018.

PINHO, J. D. et al. Downregulation of miR-145 is associated with perineural invasion in penile carcinoma. **Translational Andrology and Urology**, v. 10, n. 5, p. 2019–2026, 1 maio 2021.

PINHO, J. D. et al. MIR-107, MIR-223-3P and MIR-21-5P Reveals Potential Biomarkers in Penile Cancer. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 21, n. 2, p. 391–397, 1 fev. 2020.

PINHO, J. D. et al. Non-Coding RNA in Penile Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, 13 maio 2022.

REIS, A. A. da S et al. Aspectos clínico-epidemiológicos associados ao câncer de pênis. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 1105-1111, 2010.

SALMENA, L. et al. A ceRNA Hypothesis: The Rosetta Stone of a Hidden RNA Language? **Cell**, v. 146, n. 3, p. 353–358, ago. 2011.

SALAZAR, A. L. Avaliação das expressões dos marcadores tumorais GLUT-1, Hexoquinase-II, Ki-67, p53, p16 com 18F-FDG PET/CT em pacientes com Câncer de Pênis. **repositorio.ufmg.br**, 17 maio 2022.

SAND, F. L. et al. Prognostic Significance of HPV and p16 Status in Men Diagnosed with Penile Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 27, n. 10, p. 1123–1132, 9 jul. 2018.

SEO, D. et al. The ceRNA network of lncRNA and miRNAs in lung cancer. **Genomics & Informatics**, v. 18, n. 4, p. e36, 31 dez. 2020.

SUN, W. et al. The NEAT1\_2/miR-491 Axis Modulates Papillary Thyroid Cancer Invasion and Metastasis Through TGM2/NF $\kappa$ b/FN1 Signaling. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 610547, 2021.

SHI, D.; FENG, X.; DING, X. Effects of long non-coding RNA MALAT1-targeting miR-570-3p and miR-34a on the invasion, proliferation, and apoptosis of human retinoblastoma cells. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 21, n. 11, p. 2337–2344, 13 fev. 2022.

TULI, H. S. et al. Molecular mechanisms behind ROS regulation in cancer: A balancing act between augmented tumorigenesis and cell apoptosis. **Archives of Toxicology**, 28 nov. 2022.

VIEIRA, C. B. et al. Profile of patients with penile cancer in the region with the highest worldwide incidence. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 19 fev. 2020.

VINUEZA-OBANDO, D.; SPIESS, P. E.; GARCÍA-PERDOMO, H. A. Pembrolizumab as a promising intervention for advanced penile cancer. **International braz j urol**, v. 48, p. 719–721, 25 jul. 2022.

WALTHER HAKENBERG, O. et al. The Diagnosis and Treatment of Penile Cancer. **Deutsches Ärzteblatt International**, v. 115, n. 39, p. 646–652, 1 set. 2018.

WANG, J. et al. KCNQ1OT1 aggravates cell proliferation and migration in bladder cancer through modulating miR-145-5p/PCBP2 axis. **Cancer Cell International**, v. 19, n. 1, dez. 2019.

WANG, J. et al. Nuclear paraspeckle assembly transcript 1 promotes the podocyte injury via targeting miR-23b-3p/B-cell lymphoma-2 interacting protein 3 like axis. **Renal Failure**, v. 44, n. 1, p. 1961–1975, 1 dez. 2022.

WANG, KEVIN C.; CHANG, HOWARD Y. Molecular Mechanisms of Long Noncoding RNAs. **Molecular Cell**, v. 43, n. 6, p. 904–914, set. 2011.

WANG, X. et al. Identification of the miRNAs signature and key genes in colorectal cancer lymph node metastasis. **Cancer Cell International**, v. 21, n. 1, 7 jul. 2021.

YAN, H.; BU, P. Non-coding RNA in cancer. **Essays in Biochemistry**, v. 65, n. 4, p. 625–639, out. 2021.



YANG, Q. et al. H19 promotes the migration and invasion of colon cancer by sponging miR-138 to upregulate the expression of HMGA1. **International Journal of Oncology**, v. 58, n. 6, p. 26, 1 jun. 2021.

YANG, S. et al. MicroRNAs, long noncoding RNAs, and circular RNAs: potential tumor biomarkers and targets for colorectal cancer. **Cancer Management and Research**, v. Volume 10, p. 2249–2257, jul. 2018.

YANG, J. et al. Long non-coding RNA XIST: a novel oncogene in multiple cancers. **Molecular Medicine**, v. 27, n. 1, dez. 2021.

YIREN, H. et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates autophagy associated chemoresistance via miR-23b-3p sequestration in gastric cancer. **Molecular Cancer**, v. 16, n. 1, p. 174, 21 nov. 2017.

ZHANG, D. et al. Long ncRNA MALAT1 promotes cell proliferation, migration, and invasion in prostate cancer via sponging miR-145. **Translational Andrology and Urology**, v. 10, n. 6, p. 2307–2319, 1 jun. 2021.

ZHANG, H. et al. LncRNA MEG3 induces endothelial differentiation of mouse derived adipose-derived stem cells by targeting MiR-145-5p/KLF4. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 9, p. 8495–8505, 1 set. 2022.

ZHANG, L. et al. MicroRNA Expression Profile in Penile Cancer Revealed by Next-Generation Small RNA Sequencing. **PLoS One**, v. 10, n. 7, p. e0131336, 2015.

ZHANG, M. et al. LncRNA XIST promotes chemoresistance of breast cancer cells to doxorubicin by sponging miR-200c-3p to upregulate ANLN. **Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology**, v. 47, n. 8, p. 1464–1472, 1 ago. 2020.

ZHANG, M. et al. The lncRNA NEAT1 activates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and promotes colorectal cancer progression via interacting with DDX5. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 11, n. 1, p. 113, 5 set. 2018.

ZHANG, X. et al. The role of long noncoding RNA in major human disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 92, p. 103214, nov. 2019.

ZHONG, X. et al. Long non-coding RNA KCNQ1OT1 promotes the progression of gastric cancer via the miR-145-5p/ARF6 axis. **The Journal of Gene Medicine**, v. 23, n. 5, p. e3330, 1 maio 2021.

ZHOU, B. et al. Translation of noncoding RNAs and cancer. **Cancer Letters**, v. 497, p. 89–99, 1 jan. 2021.

ZHU, H. et al. Functional Long Noncoding RNAs (lncRNAs) in Clear Cell Kidney Carcinoma Revealed by Reconstruction and Comprehensive Analysis of the lncRNA–miRNAs–mRNA Regulatory Network. **Medical Science Monitor**, v. 24, p. 8250–8263, 16 nov. 2018.

ZHUO, M. et al. A novel feedback loop between high MALAT-1 and low miR-200c-3p promotes cell migration and invasion in pancreatic ductal adenocarcinoma and is predictive of poor prognosis. **BMC cancer**, v. 18, n. 1, p. 1032, 23 out. 2018.

ZHUO, W. et al. Long Noncoding RNA GMAN, Up-regulated in Gastric Cancer Tissues, Is Associated With Metastasis in Patients and Promotes Translation of Ephrin A1 by Competitively Binding GMAN-AS. **Gastroenterology**, v. 156, n. 3, p. 676-691.e11, 1 fev. 2019.