



ESTUDO DE BIOINFORMÁTICA DOS GENES RELACIONADOS À AUTOFAGIA NO CÂNCER DE TIREOIDE

Palavras-Chave: Autofagia, Bioinformática, Câncer de tireoide

Autores(as): Adrielle Rodrigues Oliveiras, Vitoria Carvalho da Silva, Maria Clara Raymundo Lima, Larissa Teodoro Rabi, Karina Colombero Peres, Natassia Elena Bufalo, Elisangela de Souza Teixeira. Orientadora: Prof^{fa}. Dr^a. Laura Sterian Ward (FCM – UNICAMP)

INTRODUÇÃO:

O Câncer de tireoide é um tipo de tumor maligno cuja incidência tem aumentado em todo o mundo, inclusive no Brasil. Sendo a malignidade endócrina mais comum é o tumor de cabeça e pescoço mais frequente (1-3). O aumento na incidência de Câncer de tireoide pode estar associado a vários fatores, entre os fatores genéticos que regulam os processos celulares, a apoptose—morte celular programada desempenha um papel essencial na homeostase dos organismos. Esse mecanismo é fundamental para a eliminação de células danificadas, supérfluas ou potencialmente prejudiciais. Durante a apoptose, a célula sofre encolhimento, perde a adesão às células vizinhas, apresenta condensação e fragmentação do material genético, formando corpos apoptóticos. Em condições em que a apoptose é inibida, a autofagia pode atuar como uma via alternativa de morte celular (4-6). Diversas proteínas desempenham um papel fundamental na regulação da autofagia, coordenando a ativação e o controle desse processo em resposta a diferentes estímulos celulares. Alterações genéticas, como os polimorfismos, podem influenciar a expressão e a funcionalidade dessas proteínas, impactando a eficiência da autofagia e sua relação com diversas condições patológicas (8-9). Diante disso, nosso objetivo é investigar polimorfismos presentes em genes associados à autofagia, buscando compreender seu impacto na regulação desse mecanismo e sua possível implicação na progressão de doenças.

METODOLOGIA:

Foi utilizado um conjunto de ferramentas de bioinformática como abordagem metodológica para estudar quatro genes (*BECN1*, *PIK3R4*, *PIK3C3* E *HMGB1*) associados à autofagia. Além de explorar os efeitos dos polimorfismos em relação à função, a estrutura da proteína e a patogenicidade. Também foram explorados os níveis de expressão gênica utilizando bancos de dados biológicos.

Para a análise dos polimorfismos, foram utilizadas as seguintes ferramentas de predição funcional e estrutural: SIFT Blink, PredictSNP, SNPs&GO, PMut, PolyPhen-2, PhD-SNP, PANTHER, I-Mutant 2.0, MuPro, MutPred. Para análise estrutural, a plataforma HOPE (www3.cmbi.umcn.nl/hope/), que explora os efeitos das trocas de aminoácidos foi explorada. Além de fornecer estrutura dos aminoácidos, a HOPE fornece uma pontuação de patogenicidade pelo MetaRNN, indicando a probabilidade de que essas substituições exerçam impacto funcional negativo na proteína. Para análise dos níveis de expressão gênica, as plataformas TIMER2.0 (TIMER2.0) e GEPIA (GEPIA (Gene Expression Profiling Interactive Analysis)) que exploram dados do The Cancer Genome Atlas (TCGA) e do Genotype-Tissue Expression (GTEx). Essas ferramentas permitem a comparação da expressão de genes entre tecidos tumorais e normais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As variantes missenses identificadas no dbSNP do NCBI foram inicialmente submetidas à plataforma SIFT Blink para localizar as trocas de aminoácidos (AA). As variantes classificadas como deletérias foram selecionadas, organizadas em planilha Excel e analisadas nas plataformas SIFT, PredictSNP, PolyPhen-2, SNPs&GO, PMut, PhD-SNP, I-Mutant 2.0, MuPro e PANTHER (Tabela 1).

As variantes identificadas nos genes *BECN1*, *PIK3R4*, *PIK3C3* e *HMGB1* foram submetidas a uma análise conjunta com múltiplas ferramentas *in silico* de predição funcional e estrutural. A Tabela 1 resume os resultados obtidos para cada variante, incluindo o escore da ferramenta SIFT Blink, o ID de referência (rsID), a substituição de aminoácido (AA) e as classificações geradas por diferentes algoritmos preditivos.

Durante a avaliação do gene *BECN1*, foram identificadas quatro variantes, rs371577008, rs141389235, rs200971735 e rs370094164, que apresentaram predição de impacto altamente deletério pelas ferramentas bioinformáticas SIFT e PredictSNP. No entanto, análises adicionais não demonstraram evidências funcionais, nem alterações estruturais significativas na proteína codificada por essas variantes.

No gene *PIK3R4*, seis variantes foram analisadas: S190P, V448S, I467V, L129F, T65S e L58H. Dentre elas, S190P, T65S e L58H foram classificadas como possíveis deletérias pela maioria das ferramentas (≥ 7 ferramentas), sugerindo alto potencial patogênico. A variante L129F também apresentou predições consistentes de dano funcional. As variantes V448S e I467V exibiram classificações mistas, com menor consenso entre os algoritmos.

Para o gene *PIK3C3*, todas as cinco variantes analisadas (S12G, F64S, G185R, E312K e L366M) foram classificadas como possíveis deletérias por pelo menos oito ferramentas, evidenciando seu potencial impacto patogênico e justificando sua seleção para análises estruturais aprofundadas.

No caso do gene *HMGB1*, cinco variantes foram investigadas: P98L, F103C, P143L, D211G e R10T. As variantes F103C e P143L foram classificadas como possíveis deletérias pela maioria das ferramentas, enquanto P98L apresentou classificações majoritariamente benignas, com exceção de SIFT, I-Mutant e MuPro. As variantes D211G e R10T serão discutidas em seção posterior.

Gene	ID rs	AA	SIFT	Predict	Poly Phen-2	SNPs& GO	PMut	PhD-SNP	I-Mutant 2.0	MuPro
<i>PIK3R4</i>	rs111971757	S190P	D	78	N	D	D	N	N	D
<i>PIK3R4</i>	rs141740732	V448S	D	78	D	D	D	N	D	D
<i>PIK3R4</i>	rs367673907	I467V	D	67	D	D	D	N	N	D
<i>PIK3R4</i>	rs367673907	L129F	D	89	N	D	D	D	D	D
<i>PIK3R4</i>	rs373670198	T65S	D	89	D	D	D	N	D	D

<i>PIK3R4</i>	rs369070434	L58H	D	89	D	D	D	N	D	D
<i>PIK3C3</i>	rs375875992	S12G	D	67	D	D	D	D	D	D
<i>PIK3C3</i>	rs376966650	F64S	D	67	D	D	D	D	D	D
<i>PIK3C3</i>	rs200762676	G185R	D	78	D	D	D	D	D	D
<i>PIK3C3</i>	rs370435146	E312K	D	67	D	D	D	D	D	D
<i>PIK3C3</i>	rs140244450	L366M	D	78	D	D	D	D	N	D
<i>HMGB1</i>	rs2388544	P98L	D	78	N	N	N	N	D	D
<i>HMGB1</i>	rs3956321	D211G	D	73	N	N	N	N	D	D
<i>HMGB1</i>	rs4597168	F103C	D	89	D	N	N	D	N	N
<i>HMGB1</i>	rs61733675	P143L	D	78	D	N	N	D	D	D
<i>HMGB1</i>	rs61949685	R10T	D	73	D	N	N	D	D	D

Tabela 1: Variantes classificadas como possíveis deletérias no conjunto de ferramentas.

Após explorar os efeitos morfofuncionais e estruturais das variantes de *BECN1*, *PIK3R4*, *PIK3C3* e *HMGB1*, investigamos o impacto desses genes na expressão gênica por meio de bancos de dados públicos.

A análise da expressão gênica de *BECN1* revelou um aumento nos carcinomas tireoidianos em comparação com o tecido tireoidiano normal, embora essa diferença não tenha atingido significância estatística. Esse resultado pode indicar uma tendência de superexpressão discreta em contextos tumorais, possivelmente associada a mecanismos compensatórios ou à ativação de vias relacionadas à autofagia, descritos com frequência em tumores. Em relação à expressão de *PIK3R4*, observamos que houve uma redução significativa em amostras de câncer de tireoide quando comparadas aos tecidos normais. Essa diminuição na expressão sugere que níveis normais podem ser essenciais para a mutação da função e integridade da glândula tireóide. Sugerindo que a perda ou redução expressiva pode se associar ao desenvolvimento ou progressão do câncer de tireoide.

Para *PIK3C3* há uma mudança significativa na expressão do gene nas amostras de câncer de tireoide em comparação com as amostras de controle. Observamos que a *PIK3C3* está menos expressa no câncer e isso pode significar que a presença do gene em níveis normais pode ser fundamental para manter a saúde da tireoide e a perda significativa dele pode contribuir para o crescimento tumoral.

Para o *HMGB1* não foram identificadas diferenças significativas na expressão entre amostras de carcinoma da tireoide e tecidos normais. Esses resultados sugerem que, no contexto da tireoide, o *HMGB1* pode não apresentar regulação diferencial expressiva. No entanto, isso não exclui a possibilidade de sua participação na progressão tumoral.

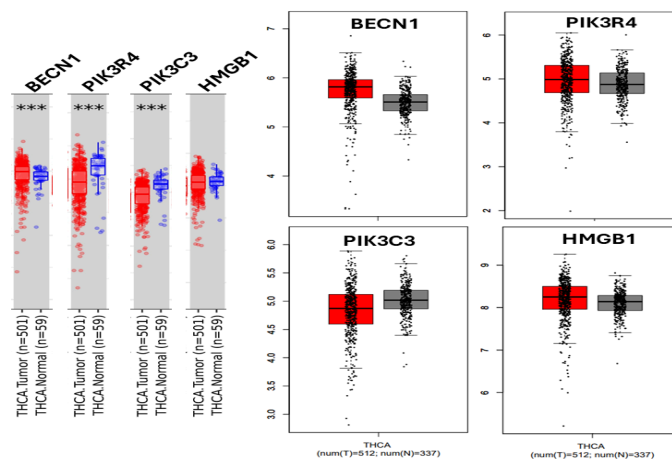


Figura 1: Análise gerada pelas plataformas Timer2.0 e Gepia, mostram o contraste das proteínas *BECN1*, *PIK3R3*, *PIK3C3* e *HMGB1* nas quais apresentam os resultados de que podem ser altamente prejudiciais ou a alteração não gera impacto.

CONCLUSÕES:

As variantes identificadas nos genes *BECN1*, *PIK3R4*, *PIK3C3* e *HMGB1* apresentam impactos relevantes na estrutura e função das proteínas codificadas. As substituições mostram potencial patogênico, afetando o dobramento, a estabilidade e a atividade das proteínas, o que pode comprometer os processos autofágicos e contribuir para o desenvolvimento do câncer de tireoide. Esses achados indicam que essas variantes são candidatas importantes para validação funcional e aprofundamento nos estudos sobre os mecanismos moleculares do câncer de tireoide.

BIBLIOGRAFIA

1. La Vecchia C, Malvezzi M, Bosetti C, Garavello W, Bertuccio P, Levi F, Negri E. Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview. *Int J Cancer* [Internet]. 2015 May
2. Zhang Y, Guo GL, Han X, Zhu C, Kilfoy BA, Zhu Y, et al. Do polybrominated diphenyl ethers (PBDE) increase the risk of thyroid cancer? *Biosci Hypotheses* [Internet]. 2008
3. Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, Squatrito S, Vigneri R. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. *J Cancer Epidemiol* [Internet]. 2013
4. Grivicich I, Regner A, Rocha AB da. Morte Celular por Apoptose. *Rev. Bras. Cancerol.* [Internet]. 28º de setembro de 2007.
5. COSTAS, Mónica A; RUBIO, María F.. Autofagia, una estrategia de supervivencia celular. *Medicina (B. Aires), Ciudad Autónoma de Buenos Aires*, v. 77, n. 4, p. 314-320, agosto 2017. 76802017000400011&lng=es&nrm=iso>. acessado em 04 fev. 2025.
6. Mizushima N, Noda T, Yoshimori T, Tanaka Y, Ishii T, George MD, Klionsky DJ, Ohsumi M, Ohsumi Y. A protein conjugation system essential for autophagy. *Nature*. 1998
7. MODULAÇÃO DA AUTOFAGIA COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA CONTRA O CÂNCER. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 125–143, 2020. Disponível em: <https://revista.acm.org.br/arquivos/article/view/761>.
8. Guryev V, Berezikov E, Malik R, Plasterk RH, Cuppen E. Single nucleotide polymorphisms associated with rat expressed sequences. *Genome Res*. 2004;14(7):1438-43.
9. Rocha AP, Magalhães PK, Maia AL, Maciel LM. Polimorfismos genéticos: implicações na patogênese do carcinoma medular de tireóide [Genetic polymorphisms: implications in the pathogenesis of medullary thyroid carcinoma]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2007.