

## **B16 Investigação dos mecanismos moleculares pelos quais o PCA3 modula a sobrevivência de células de câncer de próstata**

Ana Emília Goulart<sup>1</sup>, Luciana Bueno Ferreira<sup>2</sup>, Nadia Maria Batoreu<sup>3</sup>, Martin Hernan Bonamino<sup>4</sup>, Etel Rodrigues Pereira Gimba<sup>5</sup>

<sup>1</sup> LATER, Programa de Biofármacos e Instituto Nacional de Câncer, Centro de Pesquisa, Programa de Carcinogênese Molecular, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ

<sup>2</sup> IPATIMUP, Universidade do Porto, Portugal,

<sup>3</sup> Programa de Biofármacos, Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ

<sup>4</sup> Instituto Nacional de Câncer, Centro de Pesquisa, Programa de Carcinogênese Molecular

<sup>5</sup> Instituto Nacional de Câncer, Centro de Pesquisa, Programa de Carcinogênese Molecular e Universidade Federal Fluminense, IHS, Departamento Interdisciplinar

**Introdução:** O RNA não codificante (ncRNA) PCA3 está envolvido no controle da sobrevivência de células de câncer de próstata (CaP), através da modulação da via de sinalização do receptor de androgênio (AR).

**Objetivo:** Para melhor caracterizar por quais mecanismos moleculares o PCA3 controla a sobrevivência das células LNCaP, objetivamos investigar se os diversos genes relacionados ao câncer – incluindo os envolvidos na transição epitelial mesenquimal (EMT), os que apresentam potencial *stemness* e os co-reguladores da via do AR – podem estar envolvidos no processo de resposta à inibição do PCA3.

**Metodologia:** Empregamos *small interfering RNA* (siRNA) ou *short hairpin RNA* (shRNA) com expressão baseada em vetores lentivirais para inibir a expressão de PCA3 e avaliar os efeitos deste silenciamento na sobrevivência de células LNCaP. Após a interferência do PCA3, analisamos por RT-PCR a expressão de marcadores EMT, co-reguladores do AR, genes com potencial *stemness* e diversos genes relacionados ao câncer; utilizamos microscopia confocal para analisar a expressão da vimentina; empregamos citometria de fluxo para verificar o percentual de células LNCaP GFP+, após a transdução com vetores lentivirais.

**Resultados:** Dentre 84 genes relacionados ao câncer, 16 apresentaram expressão alterada nas células LNCaP interferidas com siPCA3 em relação ao controle de células LNCaP interferidas com siScrl. Desses, 30% codificam moléculas de transdução de sinais e/ou fatores de transcrição. Observou-se expressão aumentada de E-caderina, Claudina-3, Citoqueratina-18, Snail, Twist e Slug em células LNCaP transfectadas com siPCA3 em relação ao controle, enquanto observou-se expressão diminuída de Claudina-4, Citoqueratina-8 e

Vimentina. O padrão de marcação de vimentina foi similar em células LNCaP – siPCA3 e células LNCaP – siScrb1. Dentre os coreguladores, ARA 70, ARA 54, Smad3 e EBP1 apresentaram expressão aumentada em células LNCaP- siPCA3 em relação ao controle, enquanto Smad 4 e ciclina D1 apresentaram expressão diminuída. Não foi detectada a expressão de genes com potencial *stemness* nas condições testadas. Células transduzidas com vetores lentivirais carregando shPCA3 apresentaram diminuição estável da expressão do PCA3. Foi observada redução estável de cerca de 60% de células LNCaP-GFP+transduzidas com shPCA3 em relação aos controles. O mesmo foi observado em experimentos empregando siPCA3.

**Conclusão:** O silenciamento do PCA3 por RNAi permite diminuição de viabilidade e envolve moléculas-chaves de transdução de sinais e fatores de transcrição que podem orquestrar a sobrevivência de células de CaP. A diminuição na viabilidade das células transfectadas com siPCA3 não é modulada de forma clássica pelo programa EMT, embora alguns marcadores da transição possam regular a morte celular induzida por siPCA3. A desregulação da expressão de coreguladores observada pode modular negativamente a expressão dos genes alvo do AR. A redução estável da expressão de PCA3 mostra o potencial deste ncRNA como ferramenta terapêutica contra o CaP, por sua modulação negativa da sobrevivência celular.

**Palavras-Chave:** Câncer de Próstata, PCA3