

Predição estrutural por IA e dinâmica molecular no silenciamento do gene supressor de tumor APC por microRNAs no câncer colorretal

Micael Davi Lima de Oliveira; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;
micael.oliveira@ufam.edu.br

Beatriz Souza de Oliveira; Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Amazonas;

Letícia Fernanda da Silva Martins; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;

Vitória Helena Oliveira Castro Silva; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;

Jhenyffer Gabrielly do Nascimento Assunção; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;

Jaqueline Marques da Silva; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;

Toni Ricardo Martins; Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas;
Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada (PPGIBA), Instituto de Ciências Biológicas (ICB),
Universidade Federal do Amazonas;

1. Introdução

O câncer colorretal (CCR) constitui um importante problema de saúde global, sendo responsável por 10% de todos os casos e mortes por câncer em todo o mundo. Uma compreensão mais aprofundada das causas e da natureza biológica do CCR é essencial para que possamos criar ferramentas mais eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento, o que ajudará a reduzir o impacto da doença ¹⁻². Pesquisas atuais estão enfrentando desafios práticos, como identificar as melhores abordagens terapêuticas e identificar as populações específicas de pacientes que mais se beneficiaram da quimioterapia adjuvante ou da triagem intensiva para recorrência da doença ³.

Nos últimos dez anos, ficou claro que a expressão anormal de microRNAs desempenha um papel fundamental no início e na progressão do câncer colorretal (CCR). Dependendo do ambiente celular, microRNAs específicos podem agir tanto como supressores de tumores quanto como oncogenes. As alterações na expressão de microRNAs no CCR são consistentes e se associam ao diagnóstico, prognóstico e à resposta terapêutica. Estudos recentes começaram a investigar polimorfismos genéticos relacionados a microRNAs e sua associação com a incidência de CCR, além de explorar o uso de microRNAs circulantes (no sangue) ou fecais como biomarcadores não invasivos para detecção precoce. Esses dados indicam que os microRNAs são potenciais classificadores moleculares, biomarcadores de detecção precoce e alvos terapêuticos para o CCR ¹⁻³.

Um modelo paralelo e a ser proposto para o CCR pode ser traçado tendo como conhecimento prévio do que ocorre com as infecções de longo prazo com Papilomavírus

Humano (HPV) de alto risco os quais são conhecidas por causar câncer cervical, peniano, anal e orofaríngeo. Os métodos diagnósticos atuais dependem da descoberta de DNA viral, da observação de anormalidades celulares ou da detecção de certas proteínas do hospedeiro. Em uma pesquisa foram identificados microRNAs específicos do hospedeiro que são alterados pela infecção por HPV16 ou HPV18 em um ambiente laboratorial. Eles determinaram que as oncoproteínas virais E6 e E7 causam um aumento nos níveis de miR-16, miR-25, miR-92a e miR-378, e uma diminuição nos níveis de miR-22, miR-27a, miR-29a e miR-100.

Uma descoberta importante foi que comparar o grupo miR-25/92a e o grupo miR-22/29a pode efetivamente distinguir o colo do útero normal de lesões pré-cancerosas e câncer cervical ². Em razão disso, o estudo propõe a predição dos miRNA de maior probabilidade para o gene APC, juntamente com o segmento mRNA do gene ao qual interage e o respectivo docking molecular com Argonauta-2.

2. Material e Métodos

Utilizando a plataforma mirDB (<https://mirdb.org/>) inseriu-se o nome do gene, APC, Polipose Adenomatosa do Colo, envolvido na severidade do câncer colorretal e a ferramenta indicou os miRNA de maior probabilidade e o respectivo segmento mRNA do gene escolhido. Os miRNAs escolhidos para análises estão representados na Tabela 1, e a metodologia descrita na Figura 1.

Tabela 1. Tabela 1. Predição dos miRNA de maior probabilidade para o gene APC, juntamente com o segmento mRNA do gene ao qual interage.

miRNA	Sequência miRNA	Sequência mRNA
hsa-miR-3120-3p	CACAGCAAGUGUAGAC AGGCA	UUGCUGU
hsa-miR-561-3p	CAAAGUUUAAGAUCU UGAAGU	AAACUUUA
hsa-miR-6853-3p	UGUUCAUUGGAACCCU GCGCAG	AAUGAACA
hsa-miR-5696	CUCAUUUAAGUAGUCU GAUGCC	AAAUGAA
hsa-miR-6504-3p	CAUUACAGCACAGCCA UUCU	UGUAAUA

Após, foi realizada a predição estrutural do miRNA e do respectivo segmento mRNA do gene APC na plataforma AlphaFold Server (<https://alphafoldserver.com/>) ⁴ que emprega deep-learning para prever a estrutura tridimensional seja de proteínas ou ácidos nucleicos. Para isso, inseriu-se a sequência de nucleotídeos informada pela ferramenta mirDB, onde fez-se a predição individual para o miRNA e para o respectivo mRNA ao qual se liga. Posteriormente, realizou-se o docking molecular usando o algoritmo PIPER⁵ integrado ao software Schrodinger Maestro 2022-2, onde foram retornadas 30 conformações. Depois, fez-se um novo docking com a proteína Argonauta-2 responsável por guiar a modulação gênica, que foi obtida por cristalografia de Raios-X de código 4W5O ⁶. Em seguida, prosseguiu-se para

uma decomposição de energia MM-GBSA para escolha da conformação mais energeticamente favorável em termo de afinidade de interação (kcal/mol).

Para aprofundar a análise de estabilidade estrutural do complexos miRNA-mRNA-Argonata 2 realizou-se simulações de dinâmica molecular durante 200 ns usando o algoritmo Desmond integrado ao software Schrodinger Maestro 2021-2 em sua versão para Linux Ubuntu 24.10 usando a aceleração de um GPU de modelo Nvidia RTX 3050 de 8 Gb com 2560 CUDA cores.

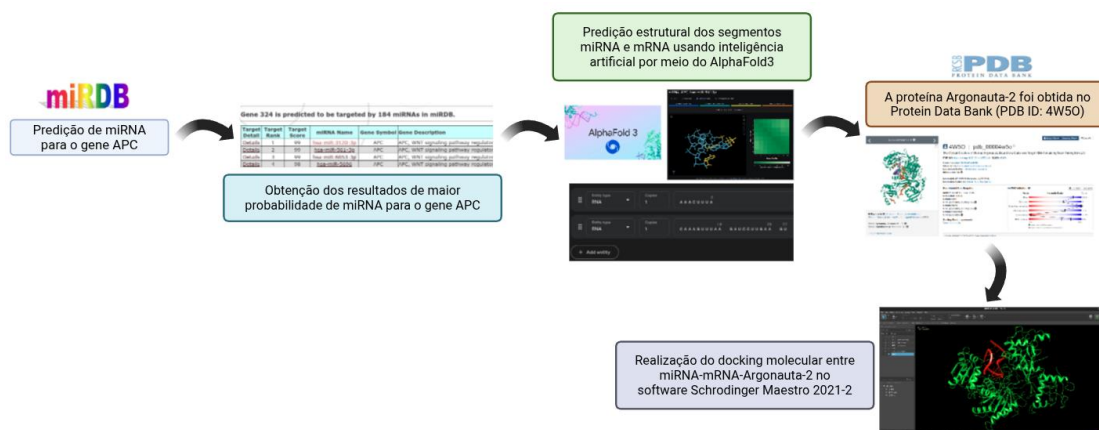


Figura 1. Diagrama da metodologia empregada para predição de miRNA do gene APC e o respectivo docking molecular com Argonata-2.

3. Resultados e Discussão

Na Figura 2-4 observa-se o complexo miRNA-Argonata-2 onde a energia de interação foi de -75.14 kcal/mol, o que do ponto de vista físico-químico é extremamente favorável à interação. A sua interação ocorre principalmente com os aminoácidos K726 e K550 por interações do tipo pi-cátion, bem como K709, K355, R366 e Y804 por ligações de ponte salina.

O miR-3120 liga-se ao mRNA do gene APC, levando a sua possível degradação ou repressão, o que resulta em menos proteína APC funcional na célula. Se o miR-3120 silencia um gene supressor de tumor como o APC, ele atua como um OncomiR (um microRNA oncogênico). Achados semelhantes já foram reportados na literatura, porém voltados para câncer do endométrio e síndrome do ovário policístico (SOP) ⁷.

Deste modo, se o miR-3120 estiver superexpresso numa célula e silenciar o gene APC, podemos esperar uma cascata de eventos com sérios impactos, tais como ativação Constitutiva da Via Wnt/ β -catenina, sendo o impacto mais direto e perigoso. Isto porque sem a proteína APC para degradar a β -catenina, esta via de sinalização fica permanentemente ativa. A célula recebe um sinal contínuo para crescer e dividir-se, independentemente dos controles externos ⁸.

Além disso, a ativação da via Wnt é um passo crítico para a formação de adenomas (pólipos pré-cancerosos) no cólon. Portanto, níveis elevados de miR-3120 poderiam não só iniciar o processo tumoral, mas também acelerar a sua progressão para um carcinoma invasivo. O aumento da instabilidade genômica, já que além de regular a β -catenina, a proteína APC também desempenha um papel na manutenção da estabilidade dos cromossomos durante a divisão celular. A sua ausência pode levar a erros na segregação cromossômica, gerando células com um número anormal de cromossomos (aneuploidia), uma característica marcante do câncer colorretal ⁸.



Figura 2. Complexo de energia mais favorável obtido por docking entre o miRNA mir_3120_3p_2 e a proteína Argonauta-2 (PDB ID: 4W5O).

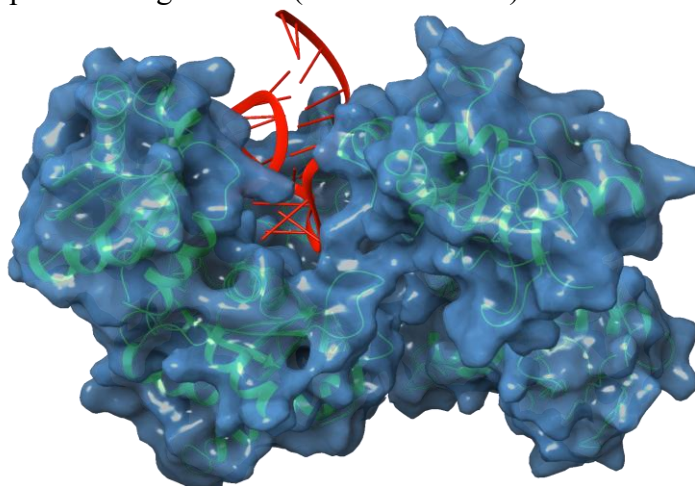


Figura 3. Visualização em superfície do complexo de energia mais favorável obtido por docking entre o miRNA mir_3120_3p_2 e a proteína Argonauta-2 (PDB ID: 4W5O).

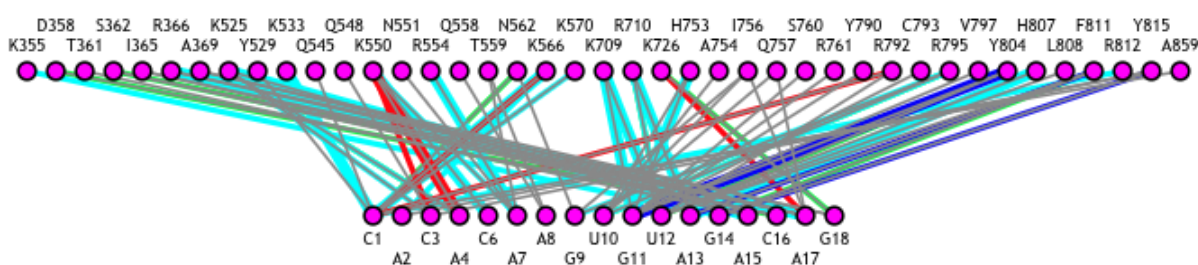


Figura 4. Interações químicas formadas proteína-RNA descritas pela ferramenta Icn3D (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/icn3d/>). Destacam-se em vermelho as ligações do tipo pi-cátion, em azul as ligações iônicas por ponte salina, em cinza os contatos hidrofóbicos.

4. Conclusões preliminares

O microRNA mir-3120 foi o que apresentou o resultado de afinidade mais expressivo dentre os analisados por docking molecular neste trabalho. Os resultados sugerem que este microRNA pode atuar como um potente oncomiR, isto é, ao silenciar o supressor de tumor APC, o miR-3120 tem o potencial de desencadear a via de sinalização Wnt/ β -catenina, um evento central na oncogênese colorretal. O próximo passo crucial será a validação experimental em modelos celulares e animais. Se confirmada, esta interação não só aprofunda o nosso

entendimento sobre a biologia deste tipo de câncer, mas também posiciona o miR-3120 como um potencial biomarcador e um alvo terapêutico inovador para o tratamento do câncer colorretal.

Palavras-Chave: Câncer colorretal, miRNA, epigenética, predição estrutural, inteligência artificial.

Divulgação

O (s) autor (es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, o Congresso Pan-Amazônico de Oncologia detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação deste resumo, por meio eletrônico.

Referências

1. Schetter AJ, Okayama H, Harris CC. The Role of MicroRNAs in Colorectal Cancer. *The Cancer Journal*. 2012 maio;18(3):244–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1097/PPO.0b013e318258b78f>
2. Wang X, Wang HK, Li Y, Hafner M, Banerjee NS, Tang S, et al. microRNAs are biomarkers of oncogenic human papillomavirus infections. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014 mar 3;111(11):4262–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1401430111>
3. Lajer CB, Garnæs E, Glud M, et al. The role of miRNAs in human papilloma virus (HPV)-associated cancers: bridging between HPV-related head and neck cancer and cervical cancer. *Br J Cancer*. 2012 abr 3;106(9):1526–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2012.109>
4. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*. 2021 jul 15;596(7873):583–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
5. Kozakov D, Brenke R, Comeau SR, Vajda S. PIPER: An FFT-based protein docking program with pairwise potentials. *Proteins*. 2006 ago 24;65(2):392–406. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/prot.21117>
6. Schirle NT, Sheu-Gruttadauria J, MacRae IJ. Structural basis for microRNA targeting. *Science*. 2014 out 31;346(6209):608–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1126/science.1258040>
7. Lai X, Wu L, Lin P, You L, Ye J. Plasma miRNAs in polycystic ovary syndrome drive endometrial cancer progression: insights into molecular pathways and therapeutic targets. *Discov Onc*. 2025 fev 7;16(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s12672-025-01861-4>
8. Parker TW, Neufeld KL. APC controls Wnt-induced β -catenin destruction complex recruitment in human colonocytes. *Sci Rep [Internet]*. 2020 fev 19;10(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-020-59899-zn.doi.org>