



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA – DEBIO
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – CB
(Modalidade: Licenciatura)

CARLA DANIELE CUTRIM DA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE COMPUTACIONAL DE FUNÇÃO DE RNAS
LONGOS NÃO-CODIFICANTES EM CARCINOMA PENIANO HPV-POSITIVO**

SÃO LUÍS – MA

2022

CARLA DANIELE CUTRIM DA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE COMPUTACIONAL DE FUNÇÃO DE RNAS
LONGOS NÃO-CODIFICANTES EM CARCINOMA PENIANO HPV-POSITIVO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dr^a. Silma Regina Ferreira Pereira

Coorientador: M.e. Jenilson Mota da Silva

SÃO LUÍS – MA

2022

CARLA DANIELE CUTRIM DA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE COMPUTACIONAL DE FUNÇÃO DE RNAS
LONGOS NÃO-CODIFICANTES EM CARCINOMA PENIANO HPV-POSITIVO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Maranhão como requisito para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 21 de dezembro de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Silma Regina Ferreira Pereira

Universidade Federal do Maranhão

Orientadora

Prof.^a Dr.^a Mayara Ingrid Sousa Lima

Universidade Federal do Maranhão

Examinadora interna

Prof. Dr. Leonardo Teixeira D'All Agnol

Universidade Federal do Maranhão

Examinador interno

São Luís – MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

da Costa, Carla Daniele Cutrim.

IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE COMPUTACIONAL DE FUNÇÃO DE RNAS
LONGOS NÃO-CODIFICANTES EM CARCINOMA PENIANO HPV-POSITIVO
/ Carla Daniele Cutrim da Costa. - 2022.
78 f.

Coorientador(a): Jenilson Mota da Silva.

Orientador(a): Silma Regina Ferreira Pereira.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

1. Câncer de pênis. 2. LncRNAs. 3. Papilomavírus
Humano. I. da Silva, Jenilson Mota. II. Pereira, Silma
Regina Ferreira. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pelo dom da vida e da minha família. Agradeço pela saúde, proteção, força, além de todas as conquistas e sonhos alcançados até aqui.

Agradeço à minha mãe Leude Cutrim e ao meu pai Herbert Costa pela criação, amor, carinho e apoio durante todas as fases da minha vida, em especial durante a graduação.

Agradeço à toda minha família, por parte de pai e mãe, que me ajudam, confortam e acompanham cada passo durante minha trajetória, especialmente às minhas tias/mães Olga Alves e Rose Costa, que são minhas maiores incentivadoras e sempre estão presentes nos momentos em que mais preciso.

Agradeço aos meus irmãos Thiago Costa, Daniel Mendonça e Ana Victória Teixeira, que mesmo à distância mantém o carinho e atenção com a irmã mais nova, que ama muito vocês.

Agradeço ao meu namorado e também futuro biólogo Vitor Brito pelo companheirismo, cuidado e amor durante esses anos, você foi e é fundamental para mim.

Agradeço aos animais que tive/tenho o prazer de compartilhar a vida, vocês não sabem ler, mas sentem todo o amor e carinho que tenho por vocês. Fazem uma diferença muito grande na minha vida e são minhas melhores companhias.

Agradeço aos meus colegas e amigos de vida, em especial, Luana Gonçalves, Maria Clara Ribeiro, Maria Clara Moraes, Luciana Carvalho e Carla Nazaré, pela amizade e apoio.

Agradeço aos meus amigos de turma (2017.2), em especial, André Ferreira, Ana Paula Soeiro, Geovane Silva, Jedhayne Leal, Lívia Ribeiro, Matheus Gomes, Paulo Dyago Gomes, Paulo Eduardo Soares e Thaís Botão e, aos amigos que o curso me presenteou, em especial Gabriele Gonçalves, Jonaina Lima e Monique Martins, que são pessoas muito especiais na minha vida.

Agradeço à minha amiga Jonaina Lima por todo incentivo e companheirismo acadêmico, mas principalmente para além do curso. Você foi um presente e tanto de Deus na minha vida. Tenho admiração muito grade por você.

Agradeço à minha amiga/irmã e quase historiadora Alynee Bezerra que apesar de não estar mais no curso de Biologia foi através dele que nos reaproximamos. Obrigada por tudo, sua amizade é extremamente importante para mim.

Agradeço à Gabriele Gonçalves que foi minha parceira no PIBIC e no grupo de pesquisa. Obrigada por todo apoio e palavras de carinho, a caminhada foi muito mais leve com você ao meu lado. Sou muito grata pela nossa amizade.

Agradeço à Luziene Sousa, Elisielma Moreno e Suhelen Aragão, por todo o apoio nessa reta final do curso e conselhos. Nos conhecemos a pouco tempo, mas tenho um carinho muito grande por todas.

Agradeço ao meu coorientador Jenilson Mota da Silva por toda ajuda durante o trabalho e conselhos de vida, você foi muito importante nesse percurso e tenho uma admiração muito grande pelo profissional e pessoa que és.

Agradeço imensamente à minha orientadora Silma Regina Ferreira Pereira pelo acolhimento no grupo de pesquisa e todas oportunidades de trabalhos e colaborações. Muito obrigada por toda paciência e ensinamentos.

Agradeço aos programas de iniciação à docência (PIBID) e científica (PIBIC), pelos financiamentos destinados aos projetos que tive a honra de participar e que trouxeram tantos ensinamentos.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Maranhão, que foi meu lar por todos esses anos, ao departamento de Biologia, ao Ivaldo Pereira e todos os professores e professoras do curso de Ciências Biológicas da UFMA por compartilharem seus conhecimentos dessa área tão linda e intrigante que é o estudo da vida.

Muito obrigada à todos.

“É perigoso sair porta afora. Você pisa na estrada e, se não controlar seus pés, não há como saber até onde você pode ser levado.”

(John Ronald Reuel Tolkien)

RESUMO

O câncer de pênis (CaPe) é um tumor raro em países desenvolvidos, mas no Brasil há uma alta incidência da doença, sendo o Maranhão um dos estados com a maior frequência no país. Apesar disso, são relativamente poucos os estudos genéticos sobre essa patologia, principalmente em relação a alterações no número de cópias (CNAs) em genes de RNAs longos não-codificantes (lncRNAs). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar por uma abordagem *in silico*, lncRNAs identificados em citobandas afetadas por CNAs e o seu potencial envolvimento na carcinogênese peniana. Dados de CNAs de 28 tumores penianos foram obtidos de estudos anteriores de nosso grupo de pesquisa, que utilizou a técnica de *array-Comparative Genomic Hybridization* (aCGH) para caracterizar alterações genômicas globais nesse carcinoma. Os lncRNAs identificados nas regiões com CNAs foram comparados àqueles descritos em tumores associados a HPV, utilizando dados do *cBioPortal*. As interações lncRNA-microRNA (miRNA) e lncRNA-ceRNA por CLIP-seq e RNA-seq ($p < 0,05$) foram obtidas por meio da plataforma *DIANA-LncBase*. Os genes regulados pelos miRNAs foram obtidos na plataforma *TarBase v.8* ($\text{miTG} > 0,9$). A validação *in silico* da interação entre lncRNAs-miRNAs foi realizada utilizando o programa *RNA22 v.2*. As vias moleculares foram identificadas usando *miRPath v.3* (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$ e *MicroT threshold* $> 0,8$), com base nas interações lncRNA-miRNA-gene. Identificamos 379 genes de lncRNAs presentes em citobandas afetadas por CNAs, dos quais *KIAA0125*, *LINCC00221* e *LINC00226* são afetados por amplificação em 100% das amostras. A predição de alvos revelou que 11 miRNAs são potencialmente regulados por esses três lncRNAs, participando de nove principais vias de sinalização: degradação de lisina, miRNAs em câncer, glioma, junção-aderência, metabolismo de colina em câncer, interação ECM-receptor, pluripotência de células-tronco, biossíntese de mucinas tipo O-glicano e biossíntese de sulfato de queratan. Sendo assim, disponibilizamos novos dados moleculares envolvidos na carcinogênese peniana, os quais podem ser posteriormente validados como biomarcadores para essa patologia.

Palavras-chave: Câncer de pênis. lncRNAs. Papilomavírus Humano.

ABSTRACT

Penile cancer (CaPe) is a rare tumor in developed countries, but in Brazil there is a high incidence of the disease, Maranhão being one of the states with the highest frequency in the country. Despite this, there are relatively few genetic studies on this pathology, mainly in relation to alterations in the number of copies (CNAs) in long non-coding RNAs (lncRNAs) genes. Thus, the objective of this work was to investigate, by an *in silico* approach, lncRNAs identified in cytobands affected by CNAs and their potential involvement in penile carcinogenesis. CNA data from 28 penile tumors were obtained from previous studies by our research group, which used the array-Comparative Genomic Hybridization (aCGH) technique to characterize global genomic alterations in this carcinoma. The lncRNAs identified in regions with CNAs were compared to those described in HPV-associated tumors using cBioPortal data. The lncRNA-microRNA (miRNA) and lncRNA-ceRNA interactions by CLIP-seq and RNA-seq ($p < 0.05$) were obtained using the DIANA-LncBase platform. Genes regulated by miRNAs were obtained from the TarBase v.8 platform ($miTG > 0.9$). *In silico* validation of the interaction between lncRNAs-miRNAs was performed using the RNA22 v.2 program. Molecular pathways were identified using miRPath v.3 (Fisher's exact test, $p < 0.05$ and MicroT threshold > 0.8), based on lncRNA-miRNA-gene interactions. We identified 379 lncRNA genes present in cytobands affected by CNAs, of which KIAA0125, LINCC00221 and LINC00226 are affected by amplification in 100% of the samples. Target prediction revealed that 11 miRNAs are potentially regulated by these three lncRNAs, participating in nine major signaling pathways: lysine degradation, miRNAs in cancer, glioma, junction-adherence, choline metabolism in cancer, ECM-receptor interaction, pluripotency of stem cells, O-glycan type mucin biosynthesis and keratan sulfate biosynthesis. Therefore, we provide new molecular data involved in penile carcinogenesis, which can be further validated as biomarkers for this pathology.

Keywords: Human Papillomavirus. LncRNAs. Penile cancer.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. <i>Hallmarks</i> do câncer	16
Figura 2. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para cada ano do triênio 2020-2022 por sexo, exceto pele não melanoma	17
Figura 3. Incidência de câncer peniano em homens de todas as idades a nível mundial no ano de 2020	18
Figura 4. Mortalidade por câncer de pênis, por 100.00 homens, nos estados do Brasil entre 2019 e 2020	19
Figura 5. Diagrama representativo da classificação de ncRNAs de acordo com seu papel biológico e comprimento	28
Figura 6. Classificação geral de RNAs longos não-codificantes, de acordo com a localização genômica e transcrição	30
Figura 7. Funções de RNAs longos não-codificadores	31
Figura 8. Fluxograma do trabalho	33
Figura 9. Diagrama de Venny mostrando intersecção total de RNAs longos não-codificantes identificados entre câncer de pênis, câncer de células escamosas cervicais e carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, em regiões cromossômicas com alteração no número de cópias	42
Figura 10. Docagem <i>in silico</i> miRNA- <i>KIAA0125</i> pela plataforma <i>RNA22</i>	46
Figura 11. Docagem <i>in silico</i> miRNA- <i>LINC00221</i> pela plataforma <i>RNA22</i>	47
Figura 12. <i>Heatmap</i> de top vias relacionadas aos miRNAs que interagem com RNA longo não-codificante <i>KIAA0125</i> (A) e <i>LINC00221</i> (B) presentes em região cromossômica com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28), obtido pela plataforma <i>MirPath v.3</i>	48
Figura 13. Representação de ação de “esponja” entre RNAs longos não-codificantes e miRNAs como potenciais mecanismos moleculares envolvidos na tumorigênese peniana	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de tumores de pênis e escroto - Organização Mundial da Saúde (OMS), 2022	22
Tabela 2. Sistema de Classificação TNM para o Câncer Peniano	23
Tabela 3. Perfil clínico e histopatológico dos pacientes com câncer de pênis HPV-positivo (n=28)	34
Tabela 4. RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações (CNA) no número de cópias em tumores penianos HPV-positivo (n=28)	37
Tabela 5. Os 41 RNAs longos não-codificantes em comum entre cânceres associados ao HPV, presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias, de acordo com os dados obtidos no portal <i>cBioPortal</i> (https://www.cbioportal.org/)	42
Tabela 6. miRNAs que interagem com RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28)	45
Tabela 7. Principais vias relacionadas aos miRNAs que interagem com os RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28), obtido pela plataforma <i>MirPath v.3</i>	48
Tabela Suplementar 1. Intersecção de genes presentes em regiões com alterações no número de cópias de carcinoma de células escamosas de cérvix, carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, câncer de pênis	71
Tabela Suplementar 2. Genes regulados pelos miRNAs que interagem com <i>KIAA0125</i> e <i>LINC00221</i>	74

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Câncer	15
2.2 Câncer de Pênis.....	17
2.2.1 Epidemiologia	17
2.2.2 Etiologia e fatores de risco	19
2.2.3 Papilomavírus humano e câncer.....	21
2.2.4 Aspectos clínicos.....	22
2.2.5 Diagnóstico e tratamento.....	24
2.3 Biomarcadores e câncer de pênis.....	25
2.4 RNAs não-codificantes	27
2.4.1 RNAs longos não-codificantes e câncer.....	29
2.4.2 Bioinformática como método preditivo	32
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. METODOLOGIA	33
4.1 Fluxograma do trabalho	33
4.2 Origem dos dados e aprovação ética.....	33
4.3 Perfil clínico, histopatológico e social dos pacientes.....	34
4.4 Triagem de lncRNAs e correlação com cânceres associados a HPV	35
4.5 Análise de interações lncRNA-miRNA-gene	36
4.6 Docagem molecular lncRNAs-miRNAs.....	36
4.7 Vias moleculares.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 lncRNAs identificados em regiões genômicas afetadas por CNAs.....	37
5.2 Correlação de lncRNAs identificados em CaPe e em outros cânceres associados a HPV.....	41
5.3 Interação de lncRNAs-miRNAs	44
5.4 Genes regulados por miRNAs associados aos lncRNAs	45
5.5 Docagem molecular de lncRNAs LINC00221 e KIAA0125 com miRNAs	46
5.6 Vias moleculares.....	47

6. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	51
ANEXOS	63
Anexo A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	63
Anexo B – Parecer de Aprovação do Comitê de Ética.....	66
APÊNDICES	71

1. INTRODUÇÃO

O câncer de pênis (CaPe) é um tumor raro em países desenvolvidos, como Estados Unidos da América (EUA) e em países da Europa Ocidental, onde a incidência é de cerca de 1:100.000 homens (HAKENBERG et al., 2018). Contudo, no Brasil, o CaPe corresponde a 2% dos casos de cânceres em homens, cujas principais ocorrências estão nas regiões Norte e Nordeste, sendo o Maranhão um dos estados com a maior incidência no país e provavelmente no mundo (COELHO et al., 2018). Esta incidência pode estar relacionada à alta frequência de infecção pelo Papilomavírus Humano (HPV) nesses pacientes (94%) (MACEDO et al., 2020), além de outros fatores de risco tais como, falta de higiene, fimose, uso de tabaco e múltiplos parceiros sexuais, visto que alguns estão relacionados ao baixo nível socioeconômico e dificuldade de acesso à educação e saúde (COELHO et al., 2018; SOARES et al., 2020; INCA, 2022).

Apesar de sua baixa frequência na população masculina, é um câncer que se destaca pela agressividade quando diagnosticado tardiamente, no entanto, relativamente poucos estudos foram realizados a fim de compreender os mecanismos moleculares envolvidos nessa patologia. Alguns trabalhos apontaram possíveis biomarcadores para o câncer de pênis, tais como microRNAs (miRNAs) (ZHANG et al., 2015; KUASNE et al., 2017; AYOUBIAN et al., 2021; SILVA et al., 2021; FURUYA et al., 2021), mutações recorrentes em genes tais como *TERT*, *TTN*, *CDKN2A*, *RYR2*, *FBXW7*, *HMCN2*, *ITGA8*, *FAT1*, *HRAS*, *NOTCH1*, *CASP8*, *TP53* e *PIK3CA* (WANG et al., 2019; SILVA et al., 2021; CANTO et al., 2022) e eventos epigenéticos, como metilação do DNA (KUASNE et al., 2013; FEBER et al., 2015; MARCHI et al., 2017). Todavia, esses autores estudaram majoritariamente tumores HPV-negativos. Entretanto, a associação entre infecção pelo HPV e alterações moleculares e genômicas em carcinoma peniano foi evidenciada anteriormente por Barzon et al (2014) e, Peta et al (2017), os quais demonstraram a capacidade do vírus em regular redes gênicas e de miRNAs (BARZON et al., 2014; PETA et al., 2017).

Além disso, HPV possui a capacidade de integrar seu genoma no genoma do hospedeiro e desencadear alterações globais, como foi demonstrado por nosso grupo de pesquisa (MACEDO et al., 2020). Adicionalmente, demonstramos um painel de miRNAs que exercem um papel importante em vias moleculares relacionadas à infecção por HPV (SILVA et al., 2021). Mais recentemente, descrevemos os genes mais alterados e variantes patogênicas mais recorrentes em pacientes da América Latina (CANTO et al., 2022). Dessa forma, estudos com cânceres penianos HPV-positivos são importantes para a compreensão dos mecanismos

moleculares envolvidos na tumorigênese e relacionados à infecção pelo vírus. Muitos estudos têm demonstrado a heterogeneidade molecular no ambiente tumoral e o papel de alterações genéticas e epigenéticas na gênese, progressão e resposta terapêutica de diversos cânceres. Mais recentemente, têm sido reportadas alterações no número de cópias de RNAs longos não-codificantes (lncRNAs) em diversas neoplasias como câncer papilar da tireoide (WU et al., 2018), câncer colorretal (DONG et al., 2022) e câncer de colo do útero (ZHONG et al., 2021; YANG, QU, ZHANG, 2022).

Os lncRNAs fazem parte dos RNAs não-codificantes (ncRNAs) e são caracterizados por possuírem mais de 200 pares de bases e não codificarem proteínas (KHORKOVA, HSIAO, WAHLESTEDT, 2015). Possuem uma abundância menor que RNAs mensageiros (mRNAs) e geralmente são classificados de acordo com sua localização em relação aos genes codificadores, os quais podem estar em regiões intergênicas, gênicas, promotoras ou em *enhancers* (KHORKOVA, HSIAO, WAHLESTEDT, 2015; DAHARIYA et al., 2019). Essas moléculas foram consideradas por muito tempo sem funcionalidade nos organismos. Contudo, diversas pesquisas demonstraram que lncRNAs são fundamentais na regulação da expressão gênica a nível epigenético, transcricional e pós-transcricional (ZHONG et al., 2021; YANG, QU, ZHANG, 2022), além de apresentarem um perfil de expressão altamente tecido-específico. Sendo assim, alterações na função e expressão dessas moléculas estão relacionadas a diversas patologias, como o câncer, o que possibilita sua utilização como biomarcador para essas doenças (QUINN, CHANG, 2016). Dessa forma, lncRNAs também têm papel na diferenciação do tecido normal para o tumoral, incluindo aqueles associados ao HPV (NOHATA et al., 2016). Apesar disso, não há estudos sobre lncRNAs em câncer de pênis.

No presente trabalho identificamos lncRNAs envolvidos na carcinogênese peniana e investigamos seu potencial papel funcional. Para isso, foram utilizados dados prévios do nosso grupo de pesquisa de regiões genômicas afetadas por CNAs em tumores penianos HPV-positivo para identificação de lncRNAs (MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021), além de ferramentas computacionais para predição de alvos e de vias moleculares a eles relacionados. Fornecemos assim, subsídio para a identificação de potenciais biomarcadores no câncer de pênis, que podem ser posteriormente utilizados para o diagnóstico e tratamento dessa patologia rara, mas ainda um grande e debilitante problema de saúde pública em países em desenvolvimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Câncer

Câncer se refere a um grupo de doenças complexas que, apesar de apresentarem suas especificidades, é resultado de mutações genéticas e têm como característica em comum a multiplicação celular rápida, progressiva e desordenada, podendo adquirir capacidade para infiltrar outros tecidos e órgãos (MATTHEWS, BERTOLI, BRUIN, 2022; INCA, 2022).

O processo de surgimento de um câncer, conhecido também como carcinogênese ou oncogênese, é multifatorial, lento e gradual e se inicia devido alterações/danos no DNA (ácido desoxirribonucleico), material genético da célula, os quais podem ser ocasionados por diversos fatores, devido à exposição a agentes químicos, biológicos ou físicos. Essas mutações acontecem frequentemente em partes codificantes do DNA (genes), responsáveis pela regulação de processos como a proliferação celular, controle do ciclo celular e apoptose. Entretanto, mutações em outros genes, como de RNAs não-codificantes (ncRNAs), também estão envolvidos no desenvolvimento de câncer, seja através da regulação da expressão gênica ou da integridade do material genético. Dessa forma, alguns genes atuam como condutores (promotores) no câncer e podem ser classificados de duas formas: genes supressores de tumor e proto-oncogenes, a depender de seu papel funcional (MCINNES, WILLARD, NUSSBAUM, 2016; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2020; INCA, 2022).

A função natural de genes supressores de tumor é manter o equilíbrio celular (homeostasia), através de mecanismos que inibem a proliferação celular, assim como induzem a morte celular (apoptose). Entretanto, quando sofrem alterações, param ou diminuem suas funções regulatórias, auxiliando na progressão de células mutadas. No que se refere aos proto-oncogenes, estes são responsáveis pela manutenção no crescimento e diferenciação das células, entretanto, quando alterados, passam a ser chamados de oncogenes e são fundamentais na multiplicação desenfreada de células cancerosas. Apesar do conhecimento de alguns genes-chave na carcinogênese, alterados em grande parte dos tumores, como *TP53*, no ambiente tumoral existe uma notável heterogeneidade e a agressividade e velocidade de estabelecimento de um câncer varia de acordo com as características do tecido e de mecanismos moleculares envolvidos (MCINNES, WILLARD, NUSSBAUM, 2016; INCA, 2022).

Entretanto, para que haja estabelecimento de um tumor, o mesmo desenvolve certas características fenotípicas que favorecem sua manutenção, essas características são conhecidas como *hallmarks* do câncer e estão representadas na Figura 1 (HANAHAN, WEINBERG, 2011).



Figura 1. *Hallmarks* do câncer.

Fonte: Adaptado de HANAHAN, WEINBERG (2011).


De forma resumida, a carcinogênese é geralmente dividida em três estágios, no qual o primeiro é conhecido como estágio de iniciação, com o surgimento de células mutadas, seguido pelo estágio de promoção, no qual essas células passam a ter influência de agentes promotores de câncer (carcinogênicos), estimulando a malignidade nessas células e, o último estágio, onde o câncer está estabelecido, é o de progressão, no qual as células se multiplicam desordenadamente. A partir desse estágio pode-se observar os primeiros sinais e sintomas clínicos da doença. A célula cancerosa não possui mais as mesmas características do tecido da qual faz parte, podendo adquirir capacidades metastáticas e atingir outros tecidos e órgãos (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2020; INCA, 2022).

De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (*International Agency for Research on Cancer – IARC*, sigla em inglês) (2020), o câncer é a segunda patologia que mais causa morte prematura na população de mais de 90 países, incluindo o Brasil, atrás apenas de doenças cardiovasculares. A estimativa, no ano de 2018, foi de que cerca de 9,6 milhões de mortes foram relacionadas a essa patologia e que 18 milhões de casos novos tenham ocorrido, ambos a nível mundial (BRAY et al., 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE, 2020).


No que se refere ao Brasil, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa é de cerca de 625 mil casos novos de câncer para o ano de 2022, no qual os dez cânceres mais incidentes, por sexo, estão presentes na Figura 2, com exceção do câncer de pele não melanoma (INCA, 2022).

Localização primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%
Cólon e Reto	20.540	9,1%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9%
Estômago	13.360	5,9%
Cavidade Oral	11.200	5,0%
Esôfago	8.690	3,9%
Bexiga	7.590	3,4%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%
Laringe	6.470	2,9%
Leucemias	5.920	2,6%

HOMENS



MULHERES



Localização primária	Casos	%
Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e Reto	20.470	9,2%
Colo do útero	16.710	7,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%
Glândula Tireoide	11.950	5,4%
Estômago	7.870	3,5%
Ovário	6.650	3,0%
Corpo do útero	6.540	2,9%
Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%

Figura 2. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para cada ano do triênio 2020-2022 por sexo, exceto de pele não melanoma.

Fonte: Adaptado de INCA (2022).

Dentre os cânceres que acometem homens, o câncer de pênis, apesar de apresentar uma baixa incidência, destaca-se pela agressividade e método de tratamento, no qual a intervenção cirúrgica é o mais predominante, podendo levar à remoção parcial ou total do órgão genital, dependendo do grau e extensão tumoral (PEYRAUD et al., 2020).

2.2 Câncer de Pênis

2.2.1 Epidemiologia

O câncer peniano apresenta diferentes incidências nas populações, como mostrado na Figura 3, no qual o tipo histológico mais frequente é o carcinoma de células escamosas (95% dos casos) (HAKENBERG et al., 2018; VANTHOOR, VOS, ALBERSEN, 2021). A nível global, no ano de 2020, o CaPe apresentou taxa de incidência padronizada por idade (age-standardized incidence rate – ASIR, sigla em inglês) de 0,8 e taxa de mortalidade (age-standardized mortality rate ASMR, sigla em inglês) de 0,29 em 100.000 homens (FU et al., 2022). Entretanto, em alguns países do continente Africano, como Essuatíni (ASR=7,0; ASMR=3,5), Uganda (ASIR=4,6; ASMR=2,4), Botsuana (ASIR=4,4; ASMR=1,5), países do Caribe, como Santa Lúcia (ASIR=3,9; ASMR=0) essa incidência aumenta consideravelmente, bem como a taxa de mortalidade (GLOBOCAN, 2020). Em alguns países europeus, como Dinamarca, a incidência tem aumentado moderadamente ao longo dos últimos anos, assim

como o número de lesões pré-cancerosas (neoplasias intraepiteliais peniana - PeIN), associadas ao aumento da infecção pelo Papilomavírus Humano (OLESEN et al., 2021; FU et al., 2022).

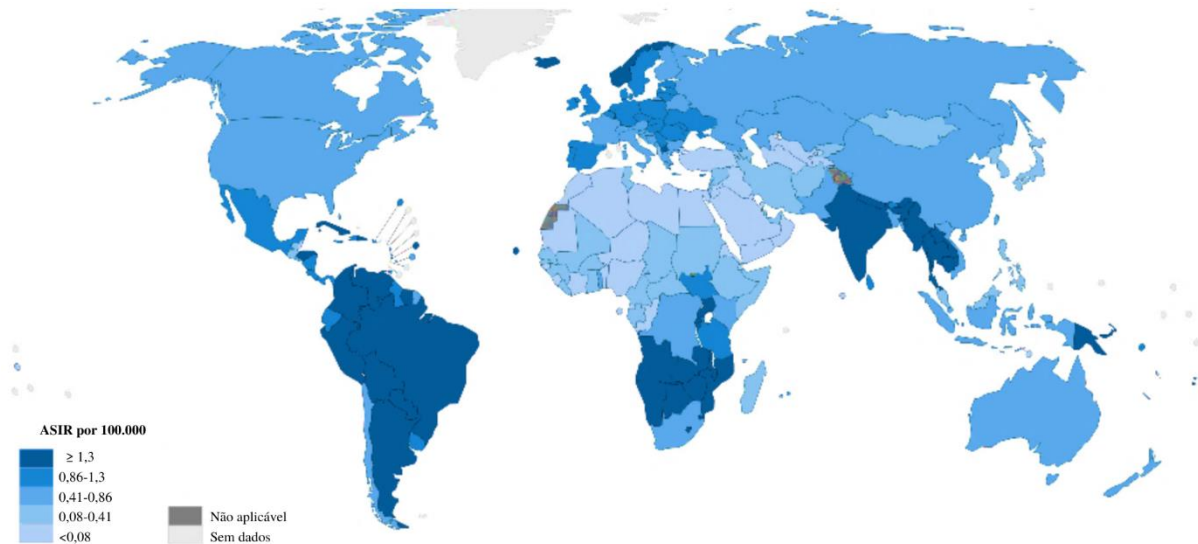


Figura 3. Incidência de câncer peniano em homens de todas as idades a nível mundial no ano de 2020.

Fonte: GLOBOCAN 2020 (<https://gco.iarc.fr/today>) (2020).

No que se refere ao Brasil, no ano de 2020, a taxa de incidência padronizada por idade (ASIR) foi de 1,3 por 100.000 homens, enquanto de mortalidade foi de 0,42 (GLOBOCAN, 2020). De acordo com o Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), entre os anos de 2019 a 2020, a maior taxa de mortalidade no Brasil foi registrada na região Nordeste do país (0,80), como mostra a Figura 4 (FAVORITO et al., 2008; INCA 2022).

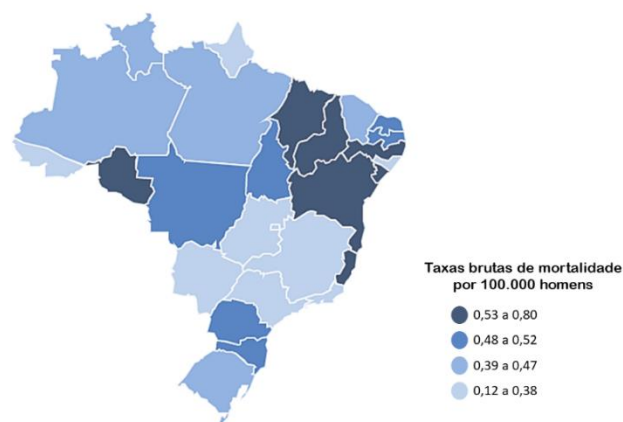


Figura 4. Mortalidade por câncer de pênis, por 100.00 homens, nos estados do Brasil entre 2019 e 2020.

Fonte: Adaptado de MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade SIMMP (2022).

Nesse mesmo período, o CaPe levou a óbito 921 homens no país, dos quais 44,5% (n=410) ocorreram nas regiões Norte e Nordeste (INCA, 2022). Nesse contexto, segundo a pesquisa de Coelho et al. (2018), o estado do Maranhão possui a maior incidência de casos no Brasil e uma das maiores a nível mundial, considerando dados do centro de tratamento Hospital do Câncer Aldenora Bello (HCAB), com cerca de 36 ocorrências de câncer peniano por ano (COELHO et al., 2018).

No ano de 2022, até o dia 15 de novembro foram registrados 20 casos de câncer de pênis no estado do Maranhão, segundo o Painel Oncologia do Ministério da Saúde (BRASIL, 2022). Essa elevada incidência e taxas de mortalidade, que contraria os padrões mundiais, corresponde aos baixos níveis educacionais e socioeconômicos, o que reflete na dificuldade de acesso à rede de saúde, má higiene e relações sexuais desprotegidas, sendo esses e outros fatores de risco para o desenvolvimento de CaPe (COELHO et al., 2018; WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE, 2020; BANDINI et al., 2022).

2.2.2 Etiologia e fatores de risco

O CaPe acomete majoritariamente homens acima de 50 anos (CHRISTODOULIDOU et al., 2015; INCA, 2022). Contudo, a incidência entre jovens tem aumentado (ADASHEK, NECCHI, SPIESS, 2019), podendo estar correlacionado ao crescente número de infectados por HPV, principalmente pela exposição cada vez mais precoce de jovens e adolescentes ao vírus durante o ato sexual desprotegido (COELHO et al., 2018; HANSEN et al., 2018).

A etiologia do CaPe ainda não está totalmente compreendida, mas diversos fatores de risco foram associados a essa patologia, como presença de fimose, acúmulo de esmegma, múltiplos parceiros sexuais, zoofilia, má higiene, baixos níveis socioeconômicos e educacionais, infecção por HPV, tabagismo, entre outros (COELHO et al., 2018; INCA, 2022).

A fimose é o excesso de pele no prepúcio que recobre a glândula do pênis, dificultando a higiene correta do local e, conseqüentemente, aumentando a concentração de esmegma, o que propicia um ambiente para a proliferação de microrganismos patogênicos (RAPÔSO et al., 2017). De acordo com o estudo de Larke et al. (2011), a prática de circuncisão (remoção completa do prepúcio) em crianças e adolescentes diminuiu consideravelmente o risco de câncer invasivo, entretanto, quando realizado na idade adulta o risco é aumentado, possivelmente por ter sido utilizado como forma de tratamento para CaPe ou condições precursoras, como fimose (LARKE et al., 2011). Em estudo recente, realizado no Maranhão, cerca de 66% (n=71) dos

com pacientes de CaPe apresentaram fimose e apenas 24% (n=26) realizaram circuncisão previamente (VIEIRA et al., 2020).

Apesar de várias pesquisas demonstrarem que a circuncisão precoce é um procedimento preventivo contra várias enfermidades, além de carcinoma peniano (MORRIS et al., 2011; VIEIRA et al., 2020), ainda está longe ser comum na sociedade, uma vez que o tabu e machismo envolvendo essa temática ainda são predominantes, bem como questões socioculturais e religiosas (OLIVEIRA et al., 2020).

O tabagismo por sua vez foi correlacionado com diversos tipos de tumores devido aos agentes carcinogênicos presentes em sua composição, como cânceres gástricos, esofágicos (DONG, THRIFT, 2017), pulmonares (RAHAL et al., 2017), entre outros. Conforme estudo de caso-controle realizado por Daling et al. (2005), verificou-se que o hábito de fumar está associado a um risco aumentado de 4,5% de CaPe invasivo (DALING et al., 2005). Entretanto, na pesquisa de Vieira e colaboradores (2020) com 116 pacientes com carcinoma peniano, atendidos no Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão e no Hospital de Câncer Aldenora Bello (HCAB) no período de 2016 a 2018 em São Luís (MA), menos de 41% dos pacientes eram fumantes (n=41) (VIEIRA et al., 2020).

Ademais, segundo pesquisa de Zequi et al. (2012), constatou-se que cerca de 44,9% dos pacientes com CaPe praticaram intercursos sexuais com animais (ZEQUI et al., 2012). Contudo, em estudo realizado no Maranhão, a taxa de pacientes que praticavam zoofilia foi de 60% (n=43), o que favorece o surgimento de microlesões e contato com diferentes microrganismos, incluindo os que não fazem parte da microbiota do homem, levando a infecções sexualmente transmissíveis e infecções urinárias (VIEIRA et al., 2020). Coinfecções também são frequentes, incluindo com subtipos de HPV. Uma pesquisa realizada por Afonso et al. (2017) evidenciou que 27,3% dos casos apresentaram coinfeção de HPV/EBV, demonstrando a importância de mais estudos sobre a relação microbiota e câncer (AFONSO et al., 2017; AYDIN et al., 2019). Em vista disso, foi realizado um estudo pioneiro de microbioma em câncer de pênis que revelou os filos Proteobacteria e Firmicutes e os gêneros *Alcaligenes* e *Fusobacterium*, como os mais abundantes no tecido tumoral e não-tumoral adjacente ao tumor, dos quais algumas bactérias estão relacionadas no processo inflamatório. Ademais, identificaram os gêneros *Alcaligenes*, *Eubacterium*, *yurii* group e *Pseudoglutamicibacter*, como específicos para carcinoma peniano de células escamosas (DEUS, 2022).

A tumorigênese peniana pode ser dividida em duas vias relacionadas ao *status* de HPV, as independentes e dependentes de HPV. As vias não-relacionadas a esse vírus são resultado de alterações de genes, eventos epigenéticos (como metilações e alterações na cromatina) e lesões

inflamatórias crônicas (BLEEKER et al., 2008; MOCH et al., 2016; AFONSO et al., 2017; EMMANUEL et al., 2019). O processo inflamatório induz a produção de espécies reativas de Oxigênio/Nitrogênio (ROS/RNS), causadores de instabilidade genômica e danos aos componentes celulares, os quais podem não ser reparados pelo organismo, levando ao desenvolvimento e progressão de diversas neoplasias (KHANSARI, SHAKIBA, MAHMOUDI, 2009; KRUK, ABOUL-ENEIN, 2017). A via dependente de HPV está atrelada ao processo infeccioso e interações/alterações gênicas e epigenéticas promovidas pela atuação direta e indireta do vírus (FEBER et al., 2015; MOCH et al., 2016; SOTO, SONG, MCLAUGHLIN-DRUBIN, 2017; MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021; VANTHOOR, VOS, ALBERSEN, 2021; VIEIRA, 2022; CANTO et al., 2022).

2.2.3 Papilomavírus humano e câncer

Estudos mostraram que aproximadamente 5,2% de todos os cânceres estão associados ao HPV (STANLEY, 2014). No que se refere ao CaPe, cerca de 50,8% dos casos são HPV-positivos (ELST, ALBERSEN, 2022). Contudo, a incidência varia nas pesquisas de acordo com a região geográfica estudada, bem como com base no método utilizado para detecção do vírus (FLAHERTY et al., 2014; SPIESS et al., 2016). Os subtipos de HPV mais associados ao câncer de pênis são 16, 18, 31 e 33, sendo estes considerados HPVs de alto risco (VANTHOOR, VOS, ALBERSEN, 2021).

Apesar desses vírus possuírem poucos genes, estes interagem com diferentes vias celulares do hospedeiro. As proteínas virais E6 e E7 são essenciais para a transformação celular e posterior evolução neoplásica em HPVs de alto risco (ARALDI et al., 2018; COSPER et al., 2021). Essas oncoproteínas promovem o crescimento celular descontrolado através da inibição/degradação de proteínas supressoras de tumor como *p53* e *Rb1*, que são reguladoras de ciclo celular. Essa inibição auxilia também no acúmulo de mutações genéticas, uma vez que *p53* é responsável pelo processo de morte celular (apoptose), dessa forma as células alteradas permanecem em constante divisão, o que leva ao desenvolvimento de tumor. Ambas proteínas virais causam instabilidade genômica no hospedeiro, seja pela integração de DNA viral ou quando alteram os sistemas de reparo da célula, levando a deleções, ampliações, inversões, entre outras modificações, propiciando o surgimento de neoplasias (SPIESS et al., 2016; COSPER et al., 2021).

A oncoproteína E6 também é responsável pelo ativamento da transcrição da enzima TERT (*telomerase reverse transcriptase*), desempenhando um papel crucial para a manutenção

dos telômeros e consequente imortalização celular (KATZENELLENBOGEN, 2017). Estudo recente do nosso grupo de pesquisa revelou que *TERT* e *NOTCH1* foram os genes mais mutados em pacientes com carcinoma peniano de células escamosas avançado e associado a HPV (CANTO et al., 2022). Ademais, os HPVs divergem em suas estratégias de permanência nas células hospedeiras e evasão do sistema imune, nos quais os de alto risco se sobressaem com mecanismos mais eficientes, que contribuem também para resistência a tratamentos de quimio e radioterapia, acarretando na permanência dos vírus no organismo e na sua influência na oncogênese (DOORBAR et al., 2012; COSPER et al., 2021).

2.2.4 Aspectos clínicos

A Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs em 2016 uma nova classificação dos cânceres penianos, não mais embasada na morfologia, mas na diferenciação de aspectos clínico-patológicos, com base no *status* de HPV, classificando-os em tumores associados e independentes de HPV (MOCH et al., 2016). Na atualização de 2022, a classificação histológica associada ao *status* de HPV permaneceu, entretanto foi simplificada, através do agrupamento de carcinomas de células escamosas independentes de HPV, como mostrado na Tabela 1 (MOCH et al., 2022).

Tabela 1. Classificação de tumores de pênis e escroto - Organização Mundial da Saúde (OMS), 2022.

ICD-O-3.2	Classificação de tumores de pênis e escroto
	Lesões escamosas benignas e precursoras
	Condiloma acuminado
	<i>Precursores do carcinoma espinocelular associado ao HPV</i>
8077/2	Lesão intraepitelial escamosa de alto grau
	<i>Precursores do carcinoma espinocelular independente do HPV</i>
8071/2	Neoplasia intraepitelial peniana diferenciada
	Tumores epiteliais invasivos do pênis e escroto
	<i>Tumores epiteliais escamosos invasivos</i>
8085/3	Carcinoma espinocelular associado ao HPV
8083/3	Carcinoma Espinocelular Basalóide
8054/3	Carcinoma verrucoso
8084/3	Carcinoma de células escamosas de células claras
8082/3	Carcinoma linfoepitelial

8086/3	Carcinoma de células escamosas, independente de HPV
8086/3	Carcinoma de células escamosas, tipo usual
8051/3	Carcinoma verrucoso (incluindo carcinoma cuniculatum)
8052/3	Carcinoma papilífero de células escamosas
8074/3	Carcinoma espinocelular sarcomatóide
8070/3	Carcinoma de células escamosas, SOE
	<i>Outros tumores epiteliais</i>
8560/3	Carcinoma adenoescamoso
8430/3	Carcinoma mucoepidermóide
8542/3	Doença de Paget, extramamária
	Outros tumores escrotais
8090/3	Carcinoma basocelular

Os códigos de morfologia são da Classificação Internacional de Doenças para Oncologia (*International Classification of Diseases for Oncology ICD-O*), terceira edição, segunda revisão (ICD-O-3.2): Lyon (França): *International Agency for Research on Cancer (IARC, sigla em inglês)* (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer); 2021. *International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) — ICD-O-3.2*; atualizado em 25 de janeiro de 2021.

O comportamento é codificado como /0 para tumores benignos; /1 para comportamento não especificado, limítrofe ou incerto; /2 para carcinoma in situ e neoplasia intraepitelial grau III; /3 para tumores malignos, local primário; e /6 para tumores malignos, local metastático.

Essa classificação é modificada a partir da classificação anterior da Organização Mundial da Saúde, levando em consideração as mudanças na compreensão dessas lesões.

Fonte: Adaptado de MOCH et al. (2022).

No que se refere ao sistema de estadiamento histopatológico, o mais utilizado é da União Internacional para Controle do Câncer (*Union for International Cancer Control*) (UICC, sigla em inglês), classificação TNM (classificação de Tumor, Nódulo e Metástase), retratada na Tabela 2. Esse sistema é essencial para a avaliação detalhada da biópsia e exames de imagem, levando em consideração a extensão do tumor, os nódulos regionais atingidos e a existência de metástase à distância, auxiliando na escolha do tratamento mais adequado, bem como no prognóstico do paciente (JÚNIOR, FILHO, REIS, 2010; GOSPODAROWICZ, BRIERLEY, WITTEKIND, 2017; SILVA et al., 2022;).

Tabela 2. Sistema de Classificação TNM para o Câncer Peniano.

CATEGORIA	DESCRIÇÃO
T	Tumor primário
TX	Tumor primário que não pode ser avaliado
T0	Sem evidência de tumor primário
Tis	Carcinoma in situ
Ta	Carcinoma verrucoso não invasivo

T1	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial
T1a	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial, mas sem invasão linfovascular e sendo diferenciado
T1b	Tumor invade tecido conjuntivo subepitelial com invasão linfovascular ou é pouco diferenciado
T2	Tumor invade corpo esponjoso com ou sem invasão da uretra
T3	Tumor invade corpo cavernoso com ou sem invasão da uretra
T4	Tumor invade outras estruturas adjacentes
N	Linfonodos regionais
NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Sem linfonodos inguinais palpáveis ou visivelmente aumentados
N1	Linfonodo inguinal unilateral móvel palpável
N2	Linfonodos inguinais móveis ou bilaterais palpáveis
N3	Massa nodal inguinal fixa ou linfadenopatia pélvica uni ou bilateral
M	Metástase Distante
M0	Sem metástase à distância
M1	Metástase à distância

Fonte: Adaptado de GOSPODAROWICZ, BRIERLEY, WITTEKIND (2017).

2.2.5 Diagnóstico e tratamento

Em estágios iniciais de CaPe a chance de cura é elevada, porém, quando avançado as intervenções realizadas são hostis e a chance de metástase e óbito são altas (THOMAS et al., 2021; INCA, 2022). Sendo assim, o diagnóstico precoce é imprescindível para promover uma melhor qualidade de vida ao paciente e tratamento mais adequado, acarretando na diminuição das chances de progressão da doença, que poderiam levar a remoção parcial ou completa do órgão genital, gerando diversos problemas psicossociais, além de maior comorbidades (DRÄGER et al., 2018).

O autoexame regular em conjunto com higiene e vacinação para HPV precoce são importantes para prevenção dessa patologia. Embora a ampliação da vacinação aos homens possa ser dispendiosa, é imprescindível em locais onde a incidência é elevada, além de reduzir a taxação de mulheres acometidas pelos vírus e tumores associados ao mesmo (THOMAS et al., 2021; SILVA et al., 2022). Recentemente, no Brasil, houve a ampliação da vacinação contra HPV, que passou a estar disponível para ambos os sexos dos 9 aos 14 anos de idade, caracterizando um avanço na prevenção de doenças ocasionadas pelo microrganismo, como câncer de pênis e de colo de útero em mulheres (BRASIL, 2022).

A confirmação dessa neoplasia, assim como avaliação do tamanho de invasão e morfologia, geralmente é realizada através do exame clínico e biópsia, com análise

histopatológica (INCA, 2022). Exames de imagem como ultrassonografia, ressonância magnética e tomografia computadorizada também auxiliam nessa avaliação e delimitação do tumor para planejamento cirúrgico (JÚNIOR, FILHO, REIS, 2010; THOMAS et al., 2021).

É primordial que os métodos de detecção de tamanho do tumor sejam altamente sensíveis e pouco invasivos, a fim de poupar ao máximo as funções e estética do órgão do paciente perante a cirurgia (PHILIPPOU et al., 2012; HAKENBERG et al., 2018; PROTZEL, HAKENBERG, 2020). Uma pesquisa demonstrou que uma margem de excisão em torno de 5 mm é apropriada e com baixas taxas de recidiva, evitando uma remoção tecidual desnecessária (PHILIPPOU et al., 2012).

Diferentes tratamentos podem ser utilizados a depender da localização, extensão tumoral e comprometimento dos gânglios inguinais. Cirurgia, radioterapia, imunoterapia e quimioterapias são algumas opções e podem ser utilizadas de forma combinada tanto em tumores primários quanto moderados, a fim de evitar a recidiva, garantindo remissão completa do tumor. Em casos mais graves geralmente são realizadas penectomia total ou parcial, que consiste na retirada de parte ou totalidade do pênis, e linfadenectomia, retirada de linfonodos (PEYRAUD et al., 2020). Entretanto, terapias direcionadas estão sendo aprimoradas, com o subsídio de biomarcadores, para acionar um tratamento personalizado e eficaz de acordo com as alterações moleculares presentes no paciente, de forma individualizada, e em tumores específicos (AYDIN et al., 2019).

2.3 Biomarcadores e câncer de pênis

Biomarcador geralmente é definido como “uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica” (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001). Entretanto, existem vários subtipos de biomarcadores, que variam de acordo com sua aplicabilidade, como biomarcadores de diagnóstico, preditivo, prognóstico, entre outros. Sendo assim, possuem um papel relevante na identificação, diferenciação, avaliação prognóstica e tratamento de diversas doenças (CALIFF, 2018). O número de pesquisas em busca de marcadores biológicos aumentou consideravelmente nos últimos anos, com o objetivo de detectar moléculas que auxiliem no diagnóstico precoce, evitando a progressão de doenças como câncer (MANIVA, 2018).

No que se refere a neoplasias associadas a HPV, o *status* desse vírus é um exemplo de biomarcador, principalmente para a avaliação prognóstica de pacientes HPV-positivo de alto

risco (subtipos virais 16 e 18), que podem evoluir para um quadro clínico desfavorável (BALACHANDRA et al., 2020; THOMAS et al., 2021). Além disso, a presença desse vírus também está relacionada a eventos epigenéticos e alterações no número de cópias (CNAS) de diversos genes, localizados principalmente em sítios de integração desse patógeno, dessa forma podem ser futuramente utilizados como marcadores biológicos em tumores associados a HPV, como câncer de colo do útero, vulva, vagina, anal, pênis e orofaringe (FEBER et al., 2015; MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021).

Apesar de poucos estudos moleculares realizados em CaPe, alguns biomarcadores estão sendo investigados, como microRNAs (KUASNE et al., 2017; SILVA et al., 2021), alterações recorrentes em genes, tais como *TERT*, *TTN*, *CDKN2A*, *RYR2*, *FBXW7*, *HMCN2*, *ITGA8*, *FAT1*, *HRAS*, *NOTCH1*, *CASP8*, *TP53* e *PIK3CA* (WANG et al., 2019; SILVA et al., 2021; CANTO et al., 2022) e eventos epigenéticos (KUASNE et al., 2013; FEBER et al., 2015; MARCHI et al., 2017). Na pesquisa realizada por Kuasne e colaboradores (2017), foram identificados três genes (*MMP1*, *MMP12* e *PPARG*) e três miRNAs (hsa-miR-31-5p, hsa-miR-224-5p e hsa-miR-223-3p) diferencialmente expressos em CaPe, com uma elevada sensibilidade e especificidade. O gene *MMP1* quando altamente expresso está associado à presença de metástase linfonodal e, conseqüentemente, um pior prognóstico. O gene *PPARG* estava expresso negativamente nas amostras e demonstrou potencial alvo terapêutico para esta patologia, uma vez que a regulação positiva de *PPARG* está associada à inibição da proliferação celular e indução à apoptose (KUASNE et al., 2017). No estudo de Macedo et al. (2020) os genes *ERBB3* e *EGFR* apresentaram aumento do número de cópias (amplificados em 97% e 65,6% dos casos, respectivamente) em pacientes com carcinoma peniano HPV-positivo de alto risco, sugerindo o papel destes genes no estabelecimento e progressão tumoral relacionados ao vírus (MACEDO et al., 2020).

Alterações no número de cópias de vários genes também foram relatadas em carcinoma peniano, principalmente em sítios de integração do HPV, como na região cromossômica 14q32.33, reforçando o papel desse patógeno no controle de alterações genéticas e expressão gênica (MACEDO et al., 2020). Outros estudos revelaram diferenças nos perfis de expressão gênica, nos quais metaloproteinases estavam altamente expressas em tumores primários penianos. Estas, por sua vez, são potenciais alvos de tratamento por meio de inibidores específicos de metaloproteinases (IBILIBOR et al., 2022; CURY et al., 2022). Contudo, investigações adicionais são necessárias para a compreensão das vias envolvidas no câncer de pênis e posterior aplicação na prática clínica (IBILIBOR et al., 2022; EMMANUEL et al., 2019; ZARGAR-SHOSHTARI et al., 2016).

Em relação à quimiorresistência no tratamento de carcinoma peniano, pesquisas recentes constataram achados importantes, onde a expressão elevada de *E2F1* foi associada à resistência à cisplatina utilizada na quimioterapia, delimitando assim um possível alvo para essa adversidade durante o tratamento (IBILIBOR et al., 2022). No entanto, apesar dos estudos citados trazerem novos *insights* sobre as vias moleculares relacionadas ao CaPe, o papel de algumas moléculas, como de RNAs não-codificantes, em especial de lncRNAs, na etiologia da doença permanecem incompreendidos e poderiam ser cruciais para o aumento no repertório e eficiência de estratégias terapêuticas conhecidas.

2.4 RNAs não-codificantes

Por volta da década de 1990 suspeitava-se que o número de genes codificadores de proteínas em humanos fossem em torno de 100.000, compondo a maior parte do genoma, entretanto, após o projeto genoma humano verificou-se que esse número era superestimado (LIANG et al., 2000; KAZEMZADEH, SAFARALIZADEH, ORANG, 2015). Por muito tempo, as regiões não codificadoras foram consideradas sem funcionalidade nos organismos (BHATTI et al., 2021). Todavia, com o avanço de técnicas moleculares voltadas para a análise de transcriptoma, observou-se que >97% do genoma é composto por RNAs não-codificantes (ncRNAs), RNAs estes que, geralmente, não possuem capacidade para codificar proteínas (PRENSNER, CHINNAIYAN, 2011; KAZEMZADEH, SAFARALIZADEH, ORANG, 2015; THE ENCODE PROJECT CONSORTIUM, 2007). Além disso, essas moléculas são encontradas em organismos dos três domínios da vida (PRENSNER, CHINNAIYAN, 2011).

Os ncRNAs são geralmente classificados de acordo com seu tamanho em: ncRNAs longos (>200 pares de bases) e ncRNAs pequenos (<200 pares de bases), entretanto dentro de cada um há várias subclassificações. Uma forma alternativa de organizar os ncRNAs leva em consideração principalmente a função biológica dessas moléculas, além do tamanho, como mostra a Figura 5, classificando-os em ncRNAs de manutenção, também conhecidos como *housekeeping*, responsáveis pelas funções básicas de funcionamento e estrutura da célula e ncRNAs regulatórios, que participam principalmente na regulação da expressão gênica (FERLITA et al., 2018; KAZEMZADEH, SAFARALIZADEH, ORANG, 2015).

São muitos os papéis desempenhados pelos ncRNAs, que por consequência estimularam um número crescente de pesquisas na busca para compreender suas funções nos organismos e, especialmente, em processos fisiopatológicos (BHATTI et al., 2021), como câncer (YE, LI, ZHAO, 2021; ANASTASIADOU, JACOB, SLACK, 2018; CORRÀ et al., 2018; HUARTE,

RINN, 2010), doenças reumáticas e cardiovasculares (CHEN et al., 2019; TSAI et al., 2018), Alzheimer (FAGHIHI et al., 2008; WANG et al., 2022; NGUYEN, CHAU, KRICHEVSKY, 2021), entre outros.

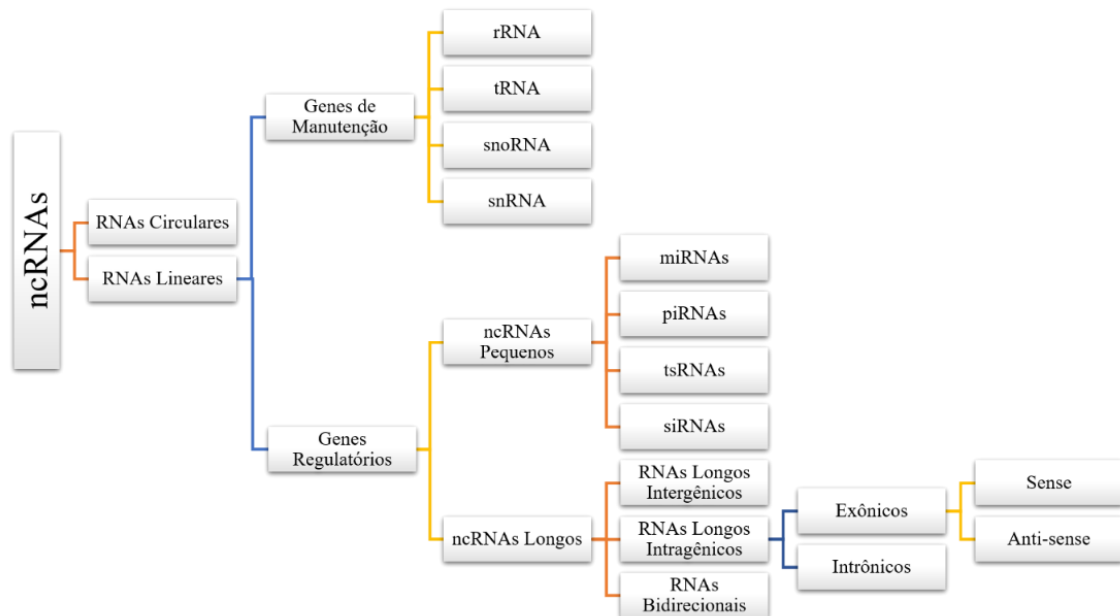


Figura 5. Diagrama representativo da classificação de ncRNAs de acordo com seu papel biológico e comprimento.

RNA ribossômico (rRNA), RNA de transferência (tRNA), RNA nucleolar pequeno (snoRNA), RNA nuclear pequeno (snRNA), microRNA (miRNA), RNA de interação PIWI (piRNA), ncRNA derivado de RNA de transferência (tsRNA) e RNA de interferência pequeno (siRNA).

Fonte: Adaptado de Ferlita et al. (2018).

Os principais ncRNAs estudados são microRNAs (miRNA), RNAs longo não-codificantes (lncRNA), RNAs circulares (circRNA) e RNAs de interação PIWI (piRNA), os quais apresentam diferentes funções nos organismos e patologias (YAN, BU, 2021). MiRNAs e piRNAs fazem parte dos ncRNAs pequenos e são responsáveis principalmente pelo silenciamento de mRNA e regulação epigenética da cromatina, respectivamente (AMERES, ZAMORE, 2013; ZENG et al., 2020). LncRNAs e circRNAs são classificados como ncRNAs longos e possuem diversos mecanismos para regulação da expressão gênica, como metilação de DNA (regulação epigenética), atuando como sinalizadores, “esponja” de miRNA, além de facilitadores para interação proteína-proteína, dentre outras funções (KAZEMZADEH, SAFARALIZADEH, ORANG, 2015; CHEN, YANG, 2015). Sendo assim, o conhecimento funcional dessas moléculas é fundamental para desvendar os processos moleculares que ocorrem nos organismos, principalmente em quadros patológicos, fornecendo novos dados para

possíveis alvos terapêuticos e/ou prognósticos e, por esses motivos, os ncRNAs, em especial lncRNAs, estão se tornando tão estudados nos últimos anos (YAN, BU, 2021).

2.4.1 RNAs longos não-codificantes e câncer

RNAs longos não-codificantes (lncRNAs), são caracterizados por possuírem mais de 200 pares de bases e não codificarem proteínas. Entretanto, estudos recentes mostraram que algumas dessas moléculas possuem fases de leitura aberta curtas (*open reading frame*, ORFs, sigla em inglês), dando origem a pequenas proteínas ou micropeptídeos funcionais (HARTFORD, LAL, 2020), responsáveis pela regulação de processos como proliferação celular (por exemplo, LncRNA-Six1-ORF-2) (CAI et al., 2017), vias de sinalização (como Toddler e SPAR) (PAULI et al., 2014; MATSUMOTO et al., 2017), regulação de tradução e transcrição (por exemplo, STORM e PRC2/Xist) (MIN et al., 2017; BROCKDORFF, 2013), na eficiência respiratória (por exemplo, mitorregulina) (STEIN et al., 2018), *splicing* de mRNA (como HOXB-AS3) (HUANG et al., 2017), entre outros.

A biogênese de lncRNAs é similar ao de mRNAs, na qual RNA Polimerase II (POLII) é responsável pela transcrição dessas moléculas e também podem sofrer capeamento 5', poliadenilação e *splicing*. Sendo assim, muitas vezes, não se diferenciam bioquimicamente de mRNAs, salvo a frequente ausência de ORFs para codificação de proteínas, menor número de éxons e na expressão gênica. Entretanto, quando presentes, as ORFs são mais conservadas que mRNAs, além de possuírem sequências mais curtas e o perfil de expressão do lncRNA ser mais específico (WU et al., 2020; QUINN, CHANG, 2016). Genes de lncRNAs estão presentes em diferentes regiões no genoma e de acordo com essa localização podem ser classificados em 5 tipos: lncRNA de sentido exônico, sentido intrônico, antisentido, bidirecional (eRNA-enhancer) e intergênico, como mostra a Figura 6 (MATHY, CHEN, 2017).

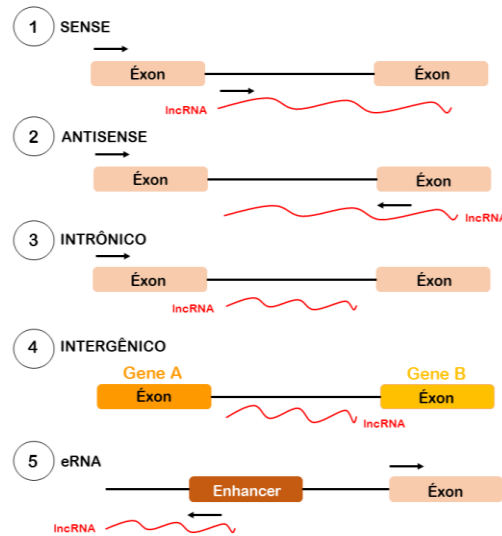


Figura 6. Classificação geral de RNAs longos não-codificantes, de acordo com a localização genômica e transcrição.

Fonte: Adaptado de Mathy e Chen (2017).

Diversos estudos demonstraram o papel de lncRNAs na regulação da expressão gênica a nível epigenético, transcricional e pós-transcricional (YANG, QU, ZHANG, 2022; ZHONG et al., 2021), bem como mostraram que a função dessas moléculas está relacionada com a localização subcelular, região nuclear (com ação *cis* ou *trans* no genoma) ou citoplasmática (CHEN, 2016). Ademais, lncRNAs apresentam um perfil de expressão altamente tecido-específico (QUINN, CHANG, 2016; TANIUE, AKIMITSU, 2021), o que possibilita sua utilização como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico (WU et al., 2020).

A desregulação de lncRNAs está relacionada à iniciação e progressão de diferentes enfermidades, como infarto do miocárdio (XIE et al., 2021), disfunção ventricular (WU, DU, 2017), Alzheimer (LI et al., 2021), distúrbios associados ao sistema imunológico (STATELLO et al., 2020) e aos cânceres (LI et al., 2019a; LI et al., 2020; LAMELAS, 2021; DONG et al., 2022), regulando os processos biológicos através de interação com moléculas de DNA, mRNA, proteínas e outros RNAs não-codificantes, como mostra a Figura 7, atuando principalmente nas vias de sinalização (WANG et al., 2019; YANG, QU, ZHANG, 2022; ZHONG et al., 2021).

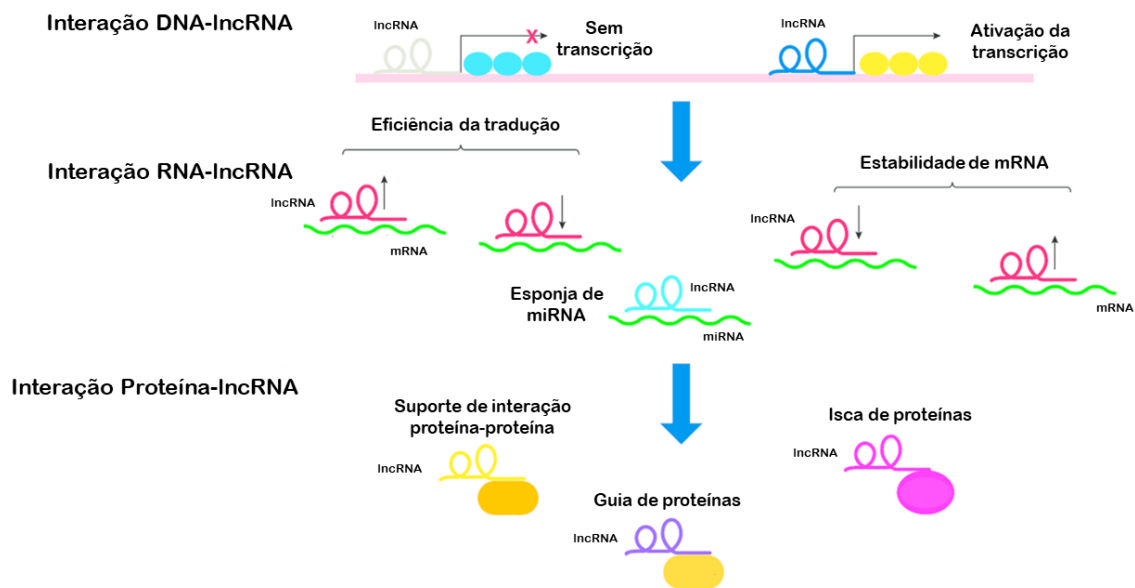


Figura 7. Funções de RNAs longos não-codificadores.

Adaptado de Murphy (2016).

Estudo realizado por Li et al. (2017) com câncer colorretal avançado, mostrou que o lncRNA *MALAT1* estava associado a um pior prognóstico e a resistência à quimioterapia à base de oxaliplatina (LI et al., 2017). Sendo assim, houve um salto no número de publicações relacionadas ao papel de lncRNAs na etiologia de tumores e na busca por biomarcadores, a fim de elucidar os processos fisiopatológicos e de resistência aos tratamentos que essas moléculas participam (TRIPATHI et al., 2018). Em outra pesquisa, a interação de oito lncRNAs (*RUSC1-AS1*, *LINC01990*, *LINC01411*, *LINC02099*, *H19*, *LINC00452*, *ADPGK-AS1* e *C1QTNF1-AS1*) resultou em um quadro clínico significativamente desfavorável no câncer de colo do útero, sugerindo-os como possíveis biomarcadores para prever o prognóstico dos pacientes (ZHONG et al., 2021).

Dentre as funções citadas de lncRNAs a função de “esponja” é uma das mais estudadas, a qual é responsável pela regulação/silenciamento de miRNAs através da ligação de lncRNAs em suas regiões reguladoras (região de semente) ou em seus sítios de ligação, atuando como RNA endógeno competidor e impedindo o silenciamento de seus mRNAs alvo (LV, WANG, ZHANG et al., 2022; XU et al., 2022; ZENG et al., 2022). Na pesquisa de Feng et al (2019), *MALAT1* promoveu proliferação de células de câncer de pulmão e resistência ao tratamento atuando como esponja de miR-200a (FENG et al., 2019). O lncRNA *H19* atua na transição epitélio-mesenquimal agindo como um RNA endógeno competidor de miR-138 e miR-200a, que tem como alvos os genes *ZEB1*, *ZEB2* e *VIM* (LIANG et al., 2015).

Dessa forma os lncRNAs surgem como potenciais alvos da medicina de precisão, onde diferentes mecanismos/terapias (como a utilização do CRISPR, ZNFs e TALENs) podem atuar na regulação/silenciamento das moléculas alteradas (TRIPATHI et al., 2018). Contudo, não há estudos sobre o papel de lncRNAs em muitos tumores, em especial no câncer de pênis, mostrando a importância de investigar a função dessas moléculas na etiologia dessa doença rara, mas agressiva.

2.4.2 Bioinformática como método preditivo

Nos últimos anos, bancos de dados genômicos e proteômicos cresceram e disponibilizaram um grandioso número de informações que facilitam a pesquisa científica possibilitando a comparação de dados com mesma ou diferentes metodologias na busca por moléculas, genes e proteínas importantes no desenvolvimento dos organismos ou relacionados à etiopatogenia. Por meio das análises *in silico*, que permitem a validação e modelagem computacional, classificação e predição de alvos, houve um avanço na triagem e resultados obtidos a partir desses dados. Algumas dessas informações são amplamente utilizadas na busca por biomarcadores promissores para prognóstico e diagnóstico de câncer, bem como na busca por alvos terapêuticos, como genes, RNAs e proteínas (JEAN-QUARTIER et al., 2018; YAN et al., 2018). Dessa forma, os resultados de análises *in silico* são importantes para o direcionamento de estudos experimentais com base em dados que podem ser oriundos de diversos estudos.

No presente trabalho utilizamos ferramentas de bioinformática para predizer interações entre lncRNAs, miRNAs, e genes, de modo a identificar vias moleculares possivelmente envolvidas na etiopatogenia do carcinoma peniano.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a partir de uma abordagem genômica e *in silico* o papel funcional de lncRNAs e as principais vias moleculares envolvidas em carcinoma peniano HPV-positivo.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar lncRNAs presentes em regiões genômicas afetadas por alterações no número de cópias (CNAs) em tumores penianos HPV-positivos;

- Identificar sítios de integração de HPV localizados nos *loci* de genes de lncRNAs
- Correlacionar lncRNAs identificados em tumores penianos com outros cânceres associados ao *status* do HPV e com perfil histopatológico semelhante;
- Determinar por ferramentas *in silico* interações gênicas, miRNAs e vias moleculares envolvidas com os lncRNAs presentes em CNAs;
- Sugerir possíveis lncRNAs como biomarcadores para o câncer de pênis.

4. METODOLOGIA

4.1 Fluxograma do trabalho

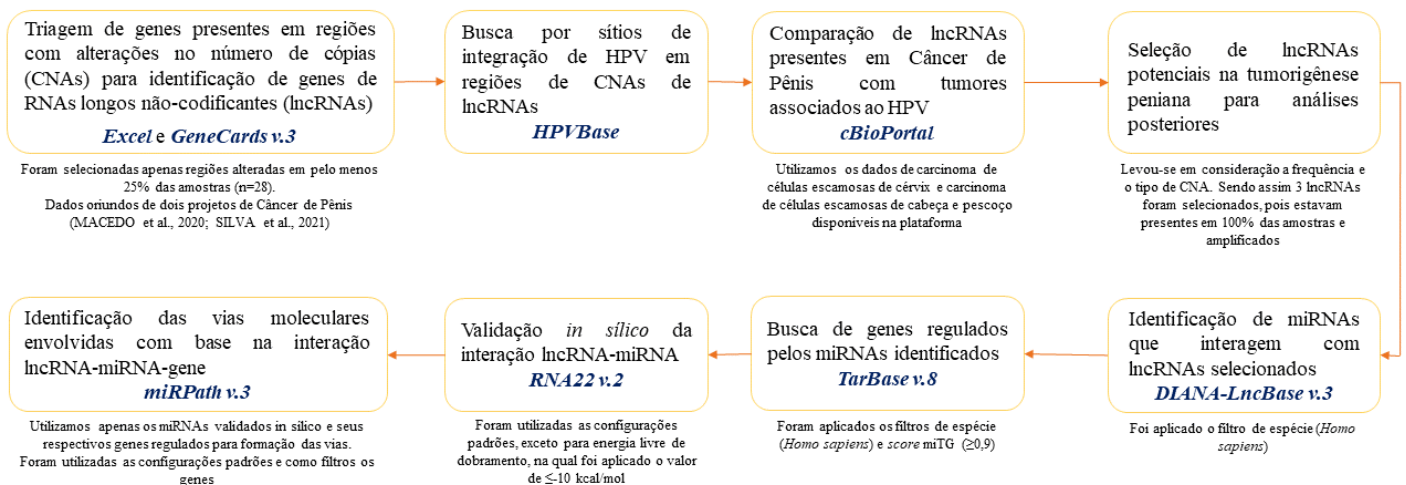


Figura 8. Fluxograma do trabalho.

As setas laranjas indicam a ordem das atividades realizadas. As plataformas e programas utilizados estão destacados em azul, e as explicações dos procedimentos, bem como os filtros utilizados estão descritas logo abaixo.

4.2 Origem dos dados e aprovação ética

A investigação de lncRNAs foi feita a partir de dados disponíveis de dois projetos de CaPe de nosso grupo de pesquisa (MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021). Os dados tratados em ambos os trabalhos são oriundos de amostras de pacientes com diagnóstico clínico e anatomopatológico de CaPe, maiores de 18 anos e que assinaram termo de consentimento e livre esclarecido (TCLE) (ANEXO A) aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos através da Plataforma Brasil, sob o processo (CAAE) nº 46371515.5.0000.5087 e parecer nº 1.308.275 (ANEXO B).

4.3 Perfil clínico, histopatológico e social dos pacientes

As amostras de tecido tumoral de 28 pacientes com CaPe foram coletadas no Hospital do Câncer Aldenora Bello, antes da realização de qualquer tratamento. A idade dos pacientes ao diagnóstico variou de 32 a 85 anos. A maioria dos pacientes possuía baixa escolaridade (apenas 17,9% possuía ensino médio) e eram casados (75%); 50% dos pacientes se declararam fumantes ou declararam serem fumantes nos últimos 5 anos e 63,3% consumiam álcool regularmente. O perfil clínico e histopatológico dos pacientes foi obtido por meio dos prontuários. Ademais, o DNA genômico das amostras foi isolado usando o método fenol-clorofórmio, seguido pela genotipagem de HPV, realizada por nested-PCR e sequenciamento de DNA, como consta nas informações na Tabela 3, conforme descrito anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa (MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021).

Tabela 3. Perfil clínico e histopatológico dos pacientes com câncer de pênis HPV-positivo (n=28).

Caso	Idade	Presença de Fimose	Subtipo de HPV	Subtipo histológico	Lesão predominante	Tamanho do tumor ^b	Grau do tumor	Estágio do Tumor	Invasão Linfática	Invasão Perineural
01	62	Não	16	Usual	Ulcerado	2,5	II	pT3	Sim	Sim
02	80	N/A	16	Condilomatoso	Ulcerado	10	II	pT2	Não	Não
03	81	Sim	18, 53	Condilomatoso	Ulcerado	2,1	II	pT1	Não	Não
04	76	Sim	30	Condilomatoso	Ulcerado	3	I	pT1b	Sim	Não
05	74	Sim	73, 74	Usual e basalóide	Verrucoso	0,8	I	pT2	Não	Não
06	78	N/A	16, 06	Usual e basalóide	Vegetativo	4	III	pT1b	Não	Não
07	57	Não	58	Usual e condilomatoso	Nodular ulcerado	3	III	pT2	Não	Não
08	85	Não	16	Condilomatoso	Nodular ulcerado	4	III	pT3	Não	Sim
09	83	Não	16	Usual	Ulcerado	4,5	III	pT3	Não	Sim
10	40	Não	59, 66	Condilomatoso	Úlcero-vegetativo	3	II	pT2	Não	Não
11	68	N/A	16, 66	Condilomatoso	Verrucoso	5,5	I	pT3	Não	Não
12	41	Sim	56	Condilomatoso	Vegetativo	3,5	II	pT2	Não	Não
13	74	Não	11, 35, 59	Condilomatoso	Vegetativo	9	II	pT3	Não	Não
14	65	N/A	16, 74	Condilomatoso	Vegetativo	3,5	II	pT2	Não	Não
15	51	N/A	16, 35, 59	Usual	Úlcero-vegetativo	3	II	pT2	Sim	Não
16	32	Não	16, 44, 74	Usual e condilomatoso	Úlcero-vegetativo	3,7	II	pT2	Não	Não
17	69	Não	16, 30	Condilomatoso	Vegetativo	3,5	I	pT2	Não	Não
18	37	Sim	Positivo ^a	Usual	Nodular ulcerado	5,0	III	pT3	Não	Sim

19	54	Sim	Positivo ^a	Usual	Vegetativo	0,8	II	pT2	Sim	Não
20	44	Sim	16	Usual	Ulcerado	1,7	II	pT1	Não	Não
21	51	Sim	16	Basalóide	Vegetativo	N/A	II	pT2	N/A	N/A
22	71	Sim	Positivo ^a	Usual	Ulcerado	2	III	Tis	Não	Não
23	74	Não	Positivo ^a	Condilomatoso	Ulcerado	1,8	II	pT1a	Não	Não
24	83	Sim	35, 59	Usual	Úlcero-vegetativo	N/A	II	pT2	N/A	N/A
25	77	N/A	Positivo ^a	Usual	Ulcerado	0,5	ni	N/A	Não	Não
26	73	Sim	16	Usual	Ulcerado	N/A	II	pT1	N/A	N/A
27	71	Não	16	Usual	Ulcerado	3,2	III	pT3	Não	Não
28	59	Sim	Positivo ^a	Condilomatoso	Verrucoso	5,5	II	pT3	Não	Sim

^aNenhuma informação sobre o genótipo do HPV; ^bTumor = em mm; N/A = não disponível. Fonte: MACEDO et al., 2020 e SILVA et al., 2021.

4.4 Triagem de lncRNAs e correlação com cânceres associados a HPV

A triagem de lncRNAs foi realizada a partir de dados de regiões genômicas com CNAs, obtidos por meio da técnica de *array-Comparative Genomic Hybridization* (aCGH), conforme descrito anteriormente (MACEDO et al., 2020). Identificamos manualmente os genes de lncRNAs presentes em tabela do *Excel*, na qual continha o nome de todos os genes presentes em regiões com CNAs identificados no *aCGH*, o tipo de alteração e a frequência. Para identificar quais genes originavam lncRNAs utilizamos a plataforma *GeneCards v.5.14* (<https://www.genecards.org/>) (SAFRAN et al., 2010). A plataforma *HPVbase* (<http://crdd.osdd.net/servers/hpvbase/>) (KUMAR GUPTA, KUMAR, 2015), que fornece informações sobre sítios de integrações virais, padrões de metilação e expressão aberrante de miRNAs associados a HPV, foi utilizada para identificar sítios de integração de HPV (HPV_{is}, HPV_{is}) relacionados aos genes de lncRNAs. Posteriormente, os lncRNAs identificados em CaPe foram comparados com lncRNAs encontrados em outros tumores associados a HPV e com perfil histopatológico semelhante, situados também em regiões com CNAs. Para isso, foi utilizada a plataforma *cBioPortal* (<https://www.cbioportal.org/>) (acesso em: 15 de agosto 2022), que através de conjuntos de dados de diferentes estudos como da Enciclopédia da Linhagem das Células do Câncer (*Cancer Cell Line Encyclopedia*) (CCLE, sigla em inglês) e os presentes no Atlas do Genoma do Câncer (*The Cancer Genome Atlas*) (TCGA, sigla em inglês), fornece bases para analisar e visualizar dados genômicos multidimensionais de câncer (GAO et al., 2013). Sendo assim, utilizou-se os dados disponíveis de CNAs para Carcinoma de Células Escamosas de Cérvix (CESC) (TCGA/PanCancer) (https://www.cbioportal.org/study/summary?id=cesc_tcg_pan_can_atlas_2018) (n=293) e

Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço (HNSCC) (TCGA/ Firehose Legacy) (https://www.cbioportal.org/study/summary?id=hnsc_tcga) (n=522), com frequências em CNAs que variaram de 0,2% a 31,6%, de acordo com as informações do *cBioPortal*.

4.5 Análise de interações lncRNA-miRNA-gene

Afim de filtrar os dados, selecionamos lncRNAs potencialmente envolvidos na tumorigênese peniana, levando em consideração a frequência nas amostras e o tipo de CNA.

As interações lncRNA-miRNA e lncRNA-ceRNA por CLIP-seq e RNA-seq ($p < 0,05$) com os lncRNAs selecionados foram obtidas por meio da plataforma *DIANA-LncBase v.3* (https://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=lncbasev2%2Findex-predicted) (acesso em: 23 de setembro, 2021), que fornece um compilado de dados de interações com suporte experimental entre lncRNAs e miRNAs, obtidos por curadoria manual de publicações e de análise de dados de alto rendimento (KARAGKOUNI et al., 2019).

Os genes regulados por cada um dos miRNAs identificados foram obtidos através da plataforma *TarBase v.8* (<https://dianalab.e-ce.uth.gr/html/diana/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex>) (acesso em: 20 de novembro, 2021), que dispõe dados de alvos de microRNA (miRNA) com suporte experimental, permitindo estudos *in silico* relacionados a miRNAs e seus genes regulados (KARAGKOUNI et al., 2017). Aplicamos os filtros de espécie *Homo sapiens* e *score* miTG (*miRNA Target Gene*) $\geq 0,9$ para obtermos os resultados.

4.6 Docagem molecular lncRNAs-miRNAs

A validação *in silico* da interação entre lncRNAs e miRNAs elencados pela plataforma *DIANA-LncBase v.3* foi realizada através da plataforma *RNA22 v.2* (<https://cm.jefferson.edu/rna22/Interactive/>) (MIRANDA et al., 2006) (acesso em: 03 de fevereiro, 2022), utilizando as configurações padrões, exceto para a energia de dobramento do heteroduplex miRNA-alvo, o qual foi alterado para ≤ -10 kcal/mol. As sequências de lncRNAs e miRNA foram obtidas pelo Centro Nacional de Informação sobre Biotecnologia (*National Center for Biotechnology Information*) (NCBI, sigla em inglês) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) e *miRBase v.22.1* (<https://www.mirbase.org/>) (acesso em: 03 de fevereiro, 2022), respectivamente.

4.7 Vias moleculares

As vias moleculares foram identificadas por meio do *miRPath v.3* (<http://snf-515788.vm.oceanos.grnet.gr/>) (acesso em: 17 de março, 2022) (teste Exato de Fisher, $p < 0,05$ e $\text{MicroT threshold} > 0,8$), com base nas interações lncRNA-miRNA-gene, utilizando as configurações padrões da plataforma, bem como filtro miRNAs resultantes da validação *in silico* e os genes por eles regulados, encontrados através da plataforma *TarBase v.8*. As vias geradas fazem parte da *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) (VLACHOS et al., 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 LncRNAs identificados em regiões genômicas afetadas por CNAs

A partir dos dados de regiões genômicas com CNAs, identificamos 379 genes de lncRNAs, dos quais 336 estão presentes em regiões de ganho (88,7%), 38 em regiões de perda (10%), 2 em regiões de ganho e perda (0,5%) e 3 em região de amplificação genômica (0,8%) (regiões que possuem cinco ou mais cópias). A maioria destas regiões com CNAs são sítios de integração de HPV (HPVis, sigla em inglês) (87%), reforçando o papel desse patógeno na capacidade de ocasionar alterações genéticas e afetar a expressão gênica (MACEDO et al., 2020), estes dados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alteração no número de cópias (CNA) em tumores penianos HPV-positivos (n=28).

Citobanda*	Alteração	Frequência (%)	HPVis (genótipo)	Nome de lncRNAs
1p36.3	ganho	82,1%	sim (16)	<i>LINC00982, LINC01134, LINC01346, LOC100996583, TP73-AS1</i>
1q43	ganho	50%	sim (18)	<i>CHRM3-AS1, CHRM3-AS2, LINC01139</i>
2p12-p11.2	ganho	82,1%	sim (16)	<i>LOC101927948, LOC101927967</i>
2p16.3	ganho	53,6%	sim (16, 18)	<i>LOC730100</i>
2p25.3-p11.1	ganho	42,9%	sim (16, 18, 45)	<i>AGBL5-AS1, ALMS1-IT1, ATP6V1B1-AS1, BIRC6-AS2, BOLA3-AS1, BRE-AS1, C2orf91, CYP1B1-AS1, DCTN1-AS1, DGUOK-AS1, DNAJC27-AS1, FLJ31356, FLJ33534, GACAT3, GTF3C2-AS1, HCG2040054, HS1BP3-IT1, ID2-AS1, INO80B-WBP1, LBX2-AS1, LINC00152, LINC00211, LINC00276, LINC00298, LINC00299, LINC00309, LINC00486, LINC00487, LINC00570, LINC00954,</i>

				<i>LINC01105, LINC01115, LINC01118, LINC01119, LINC01121, LINC01122, LINC01126, LINC01143, LINC01185, LINC01246, LINC01247, LINC01248, LINC01249, LINC01250, LINC01291, LINC01304, LINC01317, LINC01318, LINC01320, LINC01381, LINC01460, LINC01628, LOC100133985, MEIS1-AS2, MEIS1-AS3, MYCNOS, MYCNUT, MYTIL-AS1, NRIR, PARTICL, TGFA-IT1, LOC100129434, LOC100132215, LOC100505716, LOC100505736, LOC100506274, LOC100506474, LOC100507006, LOC101927661, LOC101928222, LOC101928371, LOC101929452, LOC101929551, LOC284950, LOC375196, LOC400940, PCBP1-AS1, RMDN2-AS1, RNASEH1-AS1, RNF144A-AS1, SIX3-AS1, SLC8A1-AS1</i>
3q26.1	ganho	42,9%	sim (45)	<i>LINC01192, LINC01322, LINC01324</i>
4p14-p13	perda	28,6%	sim (16)	<i>LINC02265, UCHL1-AS1, UGDH-AS1</i>
7p12.1-11.2	ganho	67,9%	sim (16)	<i>EGFR-AS1, HPV1, LINC01445, LINC01446, VSTM2A-OT1</i>
7p21.3	ganho	50%	sim (16)	<i>LOC100505938</i>
7q21.11	ganho	53,6%	sim (16, 35)	<i>MAGI2AS3, LOC100128317, LOC101927269, LOC101927378</i>
7p22.3-p11	ganho	39,3%	sim (16, 45)	<i>AOAH-IT1, C7orf65, C7orf69, C7orf71, DDC-AS1, DKFZp434L192, ELDR, ELFN1-AS1, ELMO1-AS1, EVX1-AS, HOTAIRM1, HOTTIP, HOXA10-AS, HOXA10-HOXA9, HOXA11-AS, HOXA-AS2, HOXA-AS3, HRAT92, INHBA-AS1, ISPD-AS1, JAZF1-AS1, KCCAT333, KIAA0087, KLHL7-AS1, LINC00265, LINC00525, LINC00957, LINC00997, LINC01162, LINC01176, LINC01447, LINC01448, LINC01449, LINC01450, MACC1-AS1, MEOX2-AS1, RBAKDN, RNF216-IT1, TSL, FOXL3-OT1, LOC100240728, LOC100506098, LOC100506178, LOC100506497, LOC100506725, LOC100507642, LOC101927354, LOC101927668, LOC101927769, LOC101928168, LOC101928401, LOC101928618, LOC102723672, LOC105375115, LOC105375166, LOC221946, LOC401312, LOC401324, LOC441204, LOC442497, LOC646762, LOC730338, NPSR1-AS1, POU6F2-AS1, PSMG3-AS1, SEPT7-AS1, SNHG15, TRG-AS1</i>
8q11.1-24.3	ganho	53,6%	sim (16, 18)	<i>ASAP1-IT1, ASAP1-IT2, AZIN1-AS1, BAALC-AS1, BAALC-AS2, BREA2, C8orf31, C8orf34-AS1, C8orf37-AS1, C8orf44, C8orf87, CA3-AS1, CASC19, CASC9, CCAT1, FAM83A-AS1, FER1L6-AS1, FER1L6-AS2, FLJ42969, FLJ46284, HAS2-AS1, LACTB2-AS1, LINC00051, LINC00251, LINC00293, LINC00534, LINC00535, LINC00536, LINC00588,</i>

				<i>LINC00861, LINC00964, LINC00967, LINC00968, LINC01030, LINC01111, LINC01151, LINC01289, LINC01298, LINC01299, LINC01300, LINC01301, LINC01419, LINC01591, LINC01592, LINC01602, LINC01603, LINC01606, LINC01607, LOC100288181, MAFA-AS1, MINCR, MSC-AS1, NCRNA00250, PCAT1, PCAT2, PRNCRI, SNHG6, LOC100130298, LOC100132813, LOC100133669, LOC100287846, LOC100507464, LOC101926892, LOC101926908, LOC101927040, LOC101927066, LOC101927141, LOC101927513, LOC101927543, LOC101927588, LOC101927657, LOC101927798, LOC101927822, LOC101927845, LOC101927915, LOC101928087, LOC101928160, LOC101928902, LOC101929217, LOC101929268, LOC101929341, LOC101929488, LOC101929528, LOC102724612, LOC102724710, LOC102724804, LOC102724874, LOC104054148, LOC105375773, LOC105375787, LOC105375843, LOC286177, OTUD6B-AS1, PKIA-AS1, RAD21-AS1, RBM12B-AS1, RDH10-AS1, RHPN1-AS1, RNF139-AS1, RRS1-AS1, SAMD12-AS1, STAU2-AS1, TONSL-AS1, UBR5-AS1, YTHDF3-AS1, ZFHX4-AS1, ZFPM2-AS1, ZNF252P-AS1</i>
8p23.1	perda	75%	sim (16)	<i>FAM66E</i>
8q23.3	ganho	71,4%	sim (16, 18)	<i>LINC01608, LINC01609, LINC02237</i>
8q24	ganho	82,1%	sim (16, 18)	<i>CASC11, CASC21, CASC8, CCAT2, CCDC26, LINC00824, LINC00977, PVT1, TMEM75</i>
9p21	ganho	35,7%	sim (16, 18)	<i>LOC101929563</i>
10q11.22	perda	75%	não	<i>LINC00842</i>
11q13.4	ganho	42,9%	sim (16)	<i>ANO1-AS2, SHANK2-AS3, LOC100128494, SHANK2-AS1</i>
11q24-25	ganho	28,6%	sim (16)	<i>C11orf44, NTM-IT, LOC101929653, LOC283177, NTM-AS1</i>
14q12	ganho	35,7%	sim (16)	<i>LINC00911, LOC283585</i>
14q32.33	amplificação	100%	sim (16)	<i>KIAA0125, LINC00221, LINC00226</i>
15q11.1-q11.2	ganho/ perda	39,3%	não	<i>LINC01193</i>
15q11.2-q13.3	ganho/ perda	46,4%	sim (18)	<i>GABRG3-AS1, IPW, LINC00929, PWAR1, PWAR4, PWAR5, PWARN, PWRN1, PWRN2, PWRN3, PWRN4, LOC101927079, LOC283683</i>
15q26.2-q26.3	ganho	32,1%	sim (16)	<i>LINC00923, LINC01582, LOC101927310, NR2F2-AS1</i>
16p11.2-q11.1	ganho	35,7%	não	<i>FLJ26245, LINC00273, LINC01566</i>
18p11.31-p11.21	ganho	35,7%	sim (16)	<i>L3MBTL4-AS1, LINC00668, LINC01387, LOC101927188</i>

19p13.11-p12	perda	25%	sim (16)	<i>HOMER3-AS1, LINC00663</i>
19p13.2	perda	28,6%	sim (16, 18)	<i>ILF3-AS1, LOC100505555, LOC105372273, RAB11B-AS1, ZNF426-DT, ZNF433-AS1, ZNF561-AS1, ZNF625-ZNF20</i>
20q13.32-q13.33	ganho	42,9%	sim (16)	<i>C20orf197, GNAS-AS1, SLMO2-ATP5E, LOC101927932, LOC101928048, LOC729296</i>
22q11.21	ganho	60,7%	sim (33)	<i>SEPT5-GP1BB</i>
Yp11.3-p11.2	perda	28,6%	não	<i>FAM197Y2P, FAM197Y5P, LINC00278, LINC00280, TTTY1, TTTY11, TTTY12, TTTY16, TTTY18, TTTY19, TTTY1B, TTTY2, TTTY20, TTTY21, TTTY21B, TTTY22, TTTY23, TTTY23B, TTTY2B, TTTY7, TTTY7B, TTTY8, TTTY8B</i>

* Citobandas alteradas em pelo menos 25% dos casos. Fonte: adaptado de (MACEDO et al., 2020; SILVA et al., 2021). HPVis significa sítio de integração de HPV.

A região cromossômica 14q32.33 foi a única que apresentou alterações em 100% dos casos, estando amplificada em todos os tumores. Nessa região estão mapeados os lncRNAs *KIAA0125*, *LINC00226* e *LINC00221*, bem como o pseudogene *ADAM6* e *miR-7641-2*. Além disso, 14q32.33 também é um dos HPVis. Dessa forma, estes 3 lncRNAs foram selecionados para as análises posteriores de seu papel funcional.

Estudos com pacientes de câncer oral (AMBELE et al., 2020) e ameloblastoma (DINIZ et al., 2019) revelaram que CNAs com amplificações e ganhos na região 14q32.33, respectivamente, foram relacionadas com a tumorigênese. Entretanto, na leucemia linfocítica crônica (LLC), a deleção desse segmento pode estar desempenhando um papel na etiopatogenia da LLC (HARRIS et al., 2021). Além disso, no sequenciamento de exoma inteiro de glioblastomas foi verificado uma perda específica na região 14q32.33, onde estão localizados *LINC00226*, *LINC00221* e *ADAM6* (SHI et al., 2019). Essa dualidade em relação ao papel de lncRNAs na carcinogênese, podendo atuar como possíveis oncogenes ou supressores de tumor, evidencia que as funções e interações dessas moléculas são variadas e complexas, além de estarem intimamente relacionadas às alterações do microambiente tumoral e do tipo histológico (DONG et al., 2019; ARORA et al., 2022).

KIAA0125, também conhecido como *FAM30A*, é estudado em vários tipos de tumores, devido à sua expressão distinta em cada um deles, sugerindo que o seu papel depende do tipo celular (YANG et al., 2019). Nas síndromes mielodisplásicas, a maior expressão de *KIAA0125* foi associada a uma sobrevida mais curta e a um maior risco de transformação para leucemia mielóide aguda (HUNG et al., 2021). Entretanto, em câncer colorretal a superexpressão de *KIAA0125* foi responsável pela supressão da proliferação, migração e invasão celular, além de

inibir a EMT (transição epitélio-mesenquimal) através da sinalização *Wnt/β-catenina* (YANG et al., 2019).

No que se refere a *LINC00221*, este é um lncRNA intergênico que está regulado positivamente em vários tumores, podendo estar correlacionado com o tratamento e prognóstico dessas patologias (TANG et al., 2019). No câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) resistente à cisplatina, os níveis de expressão desse lncRNA foram elevados e estavam associados a um prognóstico ruim. *LINC00221* tem como alvo *miR-519a*, um miRNA que pode promover a sensibilidade à droga em NSCLC por ter como alvo o gene *ZBTB5*, responsável pela regulação de vários processos biológicos (TANG et al., 2019). Segundo Yang e colaboradores (2021), o silenciamento deste lncRNA pode evitar a progressão do carcinoma hepatocelular através do eixo *let-7a-5p/MMP11* (YANG et al., 2021). Entretanto, na leucemia linfoblástica aguda infantil e na leucemia mielóide aguda, os níveis de expressão desse lncRNA são baixos e está associada a efeitos pró-apoptóticos e antiproliferativos, através da regulação de *miR-152-3p* (HUANG et al., 2020).

Quanto ao *LINC00226*, existem poucos estudos sobre o papel funcional deste lncRNA, principalmente na carcinogênese. Yu e colaboradores (2017) estudando adenocarcinoma ductal pancreático, mostraram que a expressão de *LINC00226* foi regulada negativamente, sugerindo que ele possa desempenhar um papel importante no desenvolvimento e progressão desta patologia. Entretanto, há poucos estudos sobre o padrão de expressão desse lncRNA em cânceres humanos (YU et al., 2017).

5.2 Correlação de lncRNAs identificados em CaPe e em outros cânceres associados a HPV

Foram identificados 1.749 genes de lncRNAs em carcinoma de células escamosas cervicais (CESC) (https://www.cbioportal.org/study/summary?id=cesc_tcga_pan_can_atlas_2018) e 549 genes em carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC) (https://www.cbioportal.org/study/summary?id=hnsc_tcga), presentes em regiões de amplificação e/ou deleção. Destes, apenas 41 genes de lncRNAs são comuns para CaPe, CESC e HNSCC (Figura 9 e Tabela 5).

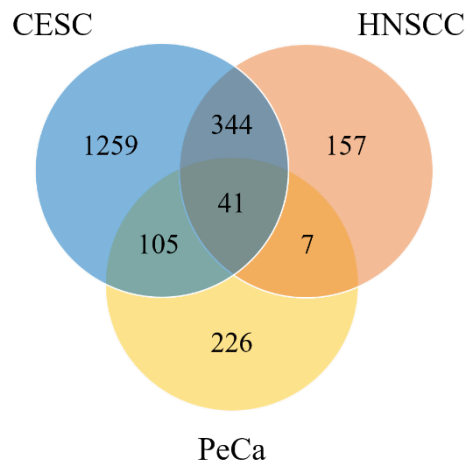


Figura 9. Diagrama de Venny mostrando intersecção total de RNAs longos não-codificantes identificados entre câncer de pênis, câncer de células escamosas cervicais e carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, em regiões cromossômicas com alteração no número de cópias.

CESC, sigla em inglês para carcinoma de células escamosas cervicais; HNSCC, sigla em inglês para carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço; PeCa, sigla em inglês para câncer de pênis.

Tabela 5. Os 41 RNAs longos não-codificantes em comum entre cânceres associados a HPV, presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias, de acordo com os dados obtidos no portal *cBioPortal* (<https://www.cbioportal.org/>).

Citobanda	Localização	Nome dos lncRNAs	HPV ^{is} (genótipo)	Frequência em CaPe ^a (n=28)	Frequência em CESC (n=293)		Frequência em HNSCC (n=522)		
					Amp	Del	Amp	Del	
14q32.33	105.879.976 - 105.932.642	<i>FAM30A</i> (<i>KIAA0125</i>)	sim (16)	100% Amplificação	1,0%	0,7%	1,1%	1,0%	
	106.482.435 - 106.521.073	<i>LINC00221</i>			1,0%	0,7%	1,1%	1,0%	
	106.287.674 - 106.288.828	<i>LINC00226</i>			1,0%	0,7%	1,1%	1,0%	
	7.955.014-8.008.755	<i>FAM66E</i>			75% Perda	-	1,0%	-	3,8%
	26.533.121-26.538.788	<i>KIAA0087</i>			0,7%	-	1,3%	0,2%	
7p14.1	39.733.430-39.793.092	<i>LINC00265</i>	sim (16,45)	39,3% Ganho	0,3%	-	1,1%	-	
7p12.3	47.761.476-47.766.772	<i>LINC00525</i>			0,3%	-	2,1%	-	
7p13	44.039.171-44.042.306	<i>LINC00957</i>			0,3%	-	1,1%	-	
8q22.3	103.132.959 - 103.141.520	<i>BAALC-AS2</i>	sim (16,18)	53,6% Ganho	1,7%	-	6,1%	-	

8q24.3	142.198.356 -	<i>LINC00051</i>			2,7%	-	10,5%	-
8q11.1	142.209.003 46.822.174- 46.907.309	<i>LINC00293</i>			0,7%	-	5,6%	-
8q21.3	90.221.341- 90.687.863	<i>LINC00534</i>			1,0%	-	4,0%	-
8q23.3	115.950.511 -	<i>LINC00536</i>			1,7%	-	8,0%	-
8q12.1	116.325.062 57.279.543- 57.286.968	<i>LINC00588</i>			0,7%	-	3,4%	-
8q24.13	125.859.721 -	<i>LINC00861</i>			2,0%	-	10,7%	-
8q24.13	126.292.788 124.823.702 -	<i>LINC00964</i>			2,0%	-	10,0%	-
8q13.1	124.962.531 66.192.093- 66.197.315	<i>LINC00967</i>			1,0%	-	3,8%	-
8q12.1	56.494.309- 56.559.823	<i>LINC00968</i>			0,7%	-	3,3%	-
8q24.21	126.556.323 -	<i>PCAT1</i>			2,0%	-	11,7%	-
8q13.1	127.419.050 66.920.561- 66.926.398	<i>SNHG6</i>			1,0%	-	3,4%	-
2p22.2	37.820.498- 37.876.274	<i>LINC00211</i>			0,3%	-	0,8%	-
2p24.3	13.710.531- 14.400.963	<i>LINC00276</i>			0,7%	-	0,2%	-
2p14	64.185.078- 64.205.485	<i>LINC00309</i>			0,7%	-	0,6%	-
2p22.3	32.825.359- 32.926.693	<i>LINC00486</i>	sim (16,18,45)	42,9% Ganho	1,4%	-	0,4%	-
2p25.1	11.372.612- 11.403.175	<i>LINC00570</i>			0,7%	-	0,2%	-
2p24.1	19.868.860- 19.885.047	<i>LINC00954</i>			1,0%	-	0,4%	-
2p24.3	15.918.350- 15.942.249	<i>MYCNOS</i>			1,0%	-	0,4%	-
16p11.2	34.158.585- 34.160.036	<i>LINC00273</i>	não	35,7% Ganho	-	0,7%	0,8%	0,2%
19p13.11	19.757.366- 19.776.423	<i>LINC00663</i>	sim (16)	25% Perda	0,3%	1,0%	0,2%	-
18p11.31	6.919.496- 6.929.966	<i>LINC00668</i>	sim (16)	35,7% Ganho	1,0%	-	3,1%	0,2%
10q11.22	46.398.362- 46.453.306	<i>LINC00842</i>	não	75% Perda	-	0,3%	0,8%	0,2%
14q31.3	85.393.828- 85.420.550	<i>LINC00911</i>	sim (16)	35,7%	1,0%	-	1,7%	0,4%
15q26.2	97.572.185- 97.875.650	<i>LINC00923</i>	sim (16)	32,1% Ganho	1,7%	-	0,8%	-
15q12	26.115.726- 26.134.001	<i>LINC00929</i>			0,7%	0,7%	0,8%	-
15q11.2	24.101.827- 24.823.365	<i>PWRN1</i>	sim (18)	46,4% Ganho/perda	-	0,7%	0,8%	-
15q11.2	24.162.754- 24.169.948	<i>PWRN2</i>			0,7%	0,3%	0,8%	-

8q24.21	128.634.199 -	<i>LINC00977</i>				2,0%	-	10,5%	-
	129.683.770		sim	82,1%					
	127.794.526		(16,18)	Ganho					
8q24.21	-	<i>PVT1</i>				3,8%	-	11,3%	0,4%
	128.187.101								
3q26.1	163.109.152 -	<i>LINC01192</i>	sim (45)	42,9%		10,9%	-	15,3%	0,2%
	163.361.563			Ganho					
15q11.2	20.940.380- 21.058.440	<i>LINC01193</i>	não	39,3%		0,7%	0,7%	0,8%	-
				Ganho/perda					
19p13.2	9.621.249- 9.674.662	<i>ZNF561-AS1</i>	sim (16,18)	28,6%		1,4%	1,0%	1,0%	-
				Perda					

^a CaPe; lncRNAs detectados em pelo menos $\geq 25\%$ das amostras, enquanto que a frequência dos dados obtidos em *cBioPortal* variam de 0,2% a 30,3%. Amp; amplificação. Del; deleção. HPVis significa sítio de integração de HPV.

Dentre os 41 lncRNAs, *LINC01192* foi o que apresentou a maior frequência de amplificação em CESC (10,9%) e HNSCC (15,3%), além de ser um dos mais frequentemente alterados em CaPe (42,9%). Li e colaboradores (2020) relataram uma alta expressão desse lncRNA em câncer de mama triplo-negativo e observaram sua associação à baixa taxa de sobrevivência dos pacientes. Existem poucos estudos sobre o papel funcional desse lncRNA, sobretudo em tumores associados a HPV. Nossos dados revelaram que a região onde está localizado o gene desse lncRNA é HPVis, sendo assim esse vírus pode ser um dos responsáveis por essas alterações. Entretanto, nos dados disponíveis para os demais cânceres não há uma estratificação das amostras quanto ao *status* de infecção pelo HPV, sendo uma limitação deste trabalho. Dessa forma, se faz necessário mais estudos para investigar o papel de *LINC01192* na tumorigênese de carcinomas de células escamosas associados a HPV (LI et al., 2020).

5.3 Interação de lncRNAs-miRNAs

Após a escolha dos lncRNAs potencialmente envolvidos na tumorigênese peniana, presentes em região de amplificação em 100% das amostras de CaPe, utilizamos a plataforma *DIANA-LncBase v.3* para prever os miRNAs com os quais essas moléculas interagem. Como resultado, identificamos um total de 19 miRNAs que estabelecem interações com lncRNAs (Tabela 6). *KIAA0125* interagiu com dez miRNAs, *LINC00221* com oito e *LINC00226* apenas com um miRNA.

Tabela 6. miRNAs que interagem com RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28).

lncRNAs	Quantidade de miRNAs	miRNAs
<i>LINC00221</i>	08	<i>hsa-let-7e-5p</i>
		<i>hsa-let-7f-5p</i>
		<i>hsa-let-7i-5p</i>
		<i>hsa-miR-148a-3p</i>
		<i>hsa-miR-148b-3p</i>
		<i>hsa-miR-152-3p</i>
		<i>hsa-miR-4677-3p</i>
		<i>hsa-miR-98-5p</i>
<i>KIAA0125</i>	10	<i>hsa-miR-383-5p</i>
		<i>hsa-miR-10a-5p</i>
		<i>hsa-miR-155-5p</i>
		<i>hsa-miR-28-5p</i>
		<i>hsa-miR-301a-3p</i>
		<i>hsa-miR-30a-5p</i>
		<i>hsa-miR-30c-5p</i>
		<i>hsa-miR-30e-3p</i>
		<i>hsa-miR-423-5p</i>
		<i>hsa-miR-503-5p</i>
<i>hsa-miR-9-3p</i>		

Dados obtidos da plataforma *DIANA-LncBase v.3*.

Os lncRNAs, de acordo com a literatura, podem servir como “esponja” e como RNA endógeno competidor (ceRNA) para regular a expressão de miRNAs, os quais se ligam ao lncRNA. Ademais, os lncRNAs podem regular ainda o processamento de miRNAs primários (pri-miRNA). Com base nisso, os lncRNAs podem ser responsáveis tanto pela promoção e progressão tumoral como pela supressão, através da regulação de miRNAs e, conseqüentemente, da expressão gênica, por meio dessas moléculas (KHORKOVA; HSIAO; WAHLESTEDT, 2015; HUANG et al., 2020; ZHAO et al., 2020). Dessa forma, a partir dos dados de miRNAs, buscamos seus genes-alvo para prever o papel funcional dessas moléculas reguladoras e, conseqüentemente, dos lncRNAs.

5.4 Genes regulados por miRNAs associados aos lncRNAs

Os genes regulados pelos miRNAs foram identificados por meio da plataforma *TarBase v.8*. Para *miR-383-5p*, único relacionado a *LINC00226* e *hsa-miR-4677-3p*, relacionado ao *LINC00221*, não foram obtidos resultados. Logo, as análises posteriores se centraram em

LINC00221 e *KIAA0125*. Ao todo, foram obtidos 703 genes sem duplicatas (Tabela Suplementar 1), regulados pelos 17 miRNAs descritos na Tabela 6 (com exceção do *miR-383-5p* e *hsa-miR-4677-3p*), dos quais 245 genes foram relacionados aos miRNAs que interagiram com *LINC00221* e 458 com *KIAA0125*.

5.5 Docagem molecular de lncRNAs *LINC00221* e *KIAA0125* com miRNAs

ORNA22 foi utilizado para validação *in silico* e prever os sítios de ligação de *KIAA0125* e *LINC00221* aos seus miRNAs candidatos. Como resultado, dos dez miRNAs que interagem como *KIAA0125*, apenas para *miR-9-3p* e *miR-30c-5p* não se obteve resultado com o filtro de energia de dobramento aplicado. Sendo assim, oito miRNAs potenciais foram validados *in silico*. Para alguns miRNAs foram encontrados mais de um sítio de ligação, com isso selecionamos aquele com menor energia livre de dobramento, uma vez que quanto menor a energia, mais estável é a ligação entre essas moléculas (Figura 10).



Figura 10. Docagem *in silico* miRNA-*KIAA0125* pela plataforma RNA22.

Docagem de miRNA-*KIAA0125* pelo algoritmo RNA22 com energia de dobramento de heteroduplex ≤ 10 kcal/mol.

Para *LINC00221*, de oito miRNAs previstos, apenas 3 geraram resultados para possíveis sítios de ligação, como mostrado na Figura 11.

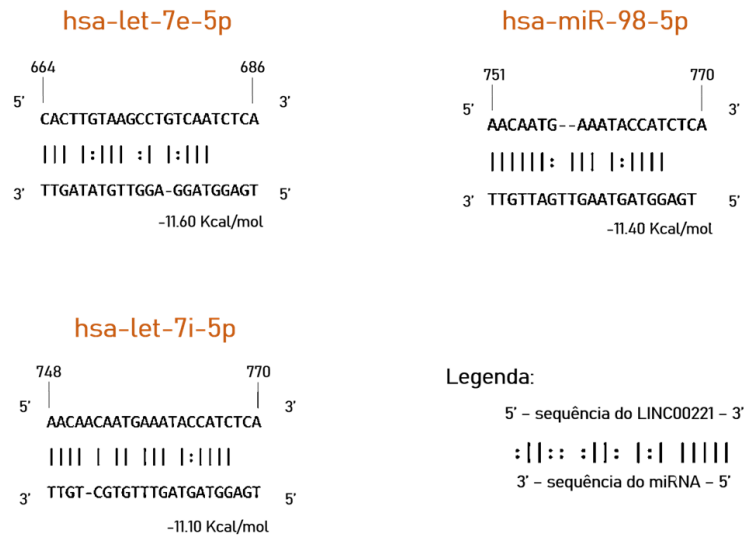


Figura 11. Docagem *in silico* miRNA-*LINC00221* pela plataforma RNA22.

Docagem miRNA-*LINC00221* pelo algoritmo RNA22 com energia de dobramento de heteroduplex ≤ 10 kcal/mol.

5.6 Vias moleculares

Por meio da interação lncRNA-miRNA-gene, obtivemos um total de nove principais vias, das quais cinco estavam relacionadas a *KIAA0125* e quatro a *LINC00221*, como mostra a Figura 12 e a Tabela 7. Destas, as vias de degradação de lisina ($p=4,54E-05$) e interação matriz extracelular-receptor ($p=2,53E-04$) foram as mais significativas (de acordo com o *p-value*). Sendo assim, a busca por literatura se centrou nessas duas vias, a fim de compreender o possível papel dessas interações na carcinogênese peniana.

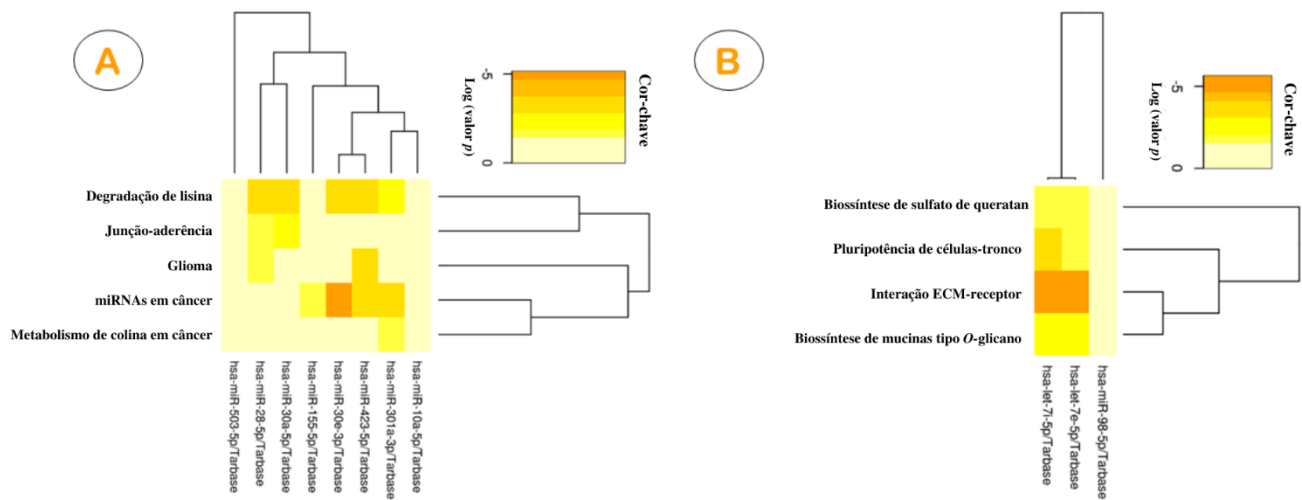


Figura 12. Heatmap de top vias relacionadas aos miRNAs que interagem com RNA longo não-codificante *KIAA0125* (A) e *LINC00221* (B) presentes em região cromossômica com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28), obtido pela plataforma *MirPath v.3*.

Tabela 7. Principais vias relacionadas aos miRNAs que interagem com os RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias (amplificação) em 100% das amostras de câncer peniano HPV-positivo (n=28), obtido pela plataforma *MirPath v.3*.

lncRNA	Vias Relacionadas	miRNAs	Genes	p-Value
<i>KIAA0125</i> (<i>FAM30A</i>)	Degradção de lisina	<i>hsa-miR-28-5p</i>	<i>WHSC1L1, ASH1L</i>	4,54E-05
		<i>hsa-miR-301a-3p</i>		
		<i>hsa-miR-30a-5p</i>		
		<i>hsa-miR-423-5p</i>		
	miRNAs em câncer	<i>hsa-miR-30e-3p</i>	<i>ASH1L, SUV420H1</i>	2,48E-02
		<i>hsa-miR-155-5p</i>	<i>MET, E2F3</i>	
		<i>hsa-miR-301a-3p</i>	<i>MET, CCND2, MDM4, PTEN</i>	
		<i>hsa-miR-30e-3p</i>	<i>MET, CCND2, E2F3, PTEN</i>	
	Glioma	<i>hsa-miR-28-5p</i>	<i>CALM3, E2F3</i>	5,72E-03
		<i>hsa-miR-423-5p</i>	<i>CALM3, E2F3, PTEN</i>	
Junção-aderência	<i>hsa-miR-28-5p</i>	<i>IQGAP1</i>	1,42E-02	
	<i>hsa-miR-30a-5p</i>	<i>MET, WASL, MAP3K7, TGFBR2</i>		
Metabolismo de colina em câncer	<i>hsa-miR-301a-3p</i>	<i>TSC1, WASL, SP1</i>	3,02E-02	
<i>LINC00221</i>	Interação ECM-receptor	<i>hsa-let-7e-5p</i>	<i>COL3A1, COL1A2</i>	2,53E-04

	<i>hsa-let-7i-5p</i>		
Pluripotência de células-tronco	<i>hsa-let-7e-5p</i>	<i>NRAS, HAND1, IGF1R, FZD3, SKIL, PCGF3, WNT9A</i>	4,79E-04
	<i>hsa-let-7i-5p</i>	<i>NRAS, HAND1, IGF1R, FZD3, SKIL, ACVR1C, PCGF3, WNT9A</i>	
Biossíntese de mucinas tipo O-glicano	<i>hsa-let-7e-5p</i>	<i>GALNT1</i>	7,58E-04
	<i>hsa-let-7i-5p</i>		
Biossíntese de sulfato de queratan	<i>hsa-let-7e-5p</i>	<i>B3GNT1</i>	9,86E-03
	<i>hsa-let-7i-5p</i>		

Existem poucos estudos sobre o papel de miRNAs na via de degradação de lisinas, principalmente em tumores, entretanto é uma via clinicamente importante, pois alterações podem causar distúrbios neurometabólicos (LEANDRO, HOUTEN, 2019). *MiR-28-5p*, *miR-301a-3p*, *miR-30a-5p* e *miR-423-5p*, foram previstos para regular os genes *WHSC1L1* e *ASH1L*, envolvidos nessa via, bem como *miR-30e-3p* para os genes *ASH1L*, *SUV420H1*.

O gene *WHSC1L1* é descrito como um oncogene humano, principalmente para o câncer de mama, onde sua superexpressão é associado à transformação neoplásica de células saudáveis (RONA et al., 2017), bem como associada à prognóstico ruim, diminuição de células T CD8+ e alta expressão de CD274 (KIM et al., 2021). A isoforma curta desse gene, conhecida como *NSD3s*, possui um único domínio *PWWP*, que reconhece lisinas metiladas em histonas, atuando na regulação da expressão gênica a nível epigenético. Esse domínio é encontrado em diversas proteínas responsáveis pela divisão celular, crescimento e diferenciação. Sendo assim, muitas estão associadas ao desenvolvimento de doenças, como o câncer (RONA et al., 2017). Saloura e colaboradores (2016) demonstraram que em HNSCC esse gene também está superexpresso e quando regulado negativamente ocasiona a interrupção do ciclo celular e diminuição nos níveis globais de dimetilação de H3K36 (lisina 36 na histona H3) (SALOURA et al., 2016).

O gene *ASH1L*, assim como *WHSC1L1* também codifica uma histona metiltransferase (HMT) envolvida na metilação da H3K36 (ROGAWSKI et al., 2021) e está frequentemente alterado em câncer de células escamosas esofágicas (SONG et al., 2014), bem como superexpresso em câncer anaplásico da tireoide, por conta dos níveis reduzidos de *miR-200b-3p*, responsável por sua regulação (XU et al., 2020).

No que se refere ao gene *SUV420H1*, em células invasivas de câncer de mama, como MDA-MB-231 ou BT-474, os níveis de *SUV420H1* são mais baixos do que em células normais e estão associados à perda da trimetilação da histona H4K20 e, conseqüentemente, a invasividade e mau prognóstico em câncer de mama (YOKOYAMA et al., 2014). Além disso, esse gene está frequentemente mutado em diferentes neoplasias. No estudo de Bröhm e

colaboradores (2019), descobriu-se que a maior parte dessas mutações são responsáveis pela redução da atividade catalítica desse gene, sugerindo que possua uma função de supressor de tumor (BRÖHM et al., 2019). Entretanto, segundo Vougiouklakis e colaboradores (2015), *SUV420H1* é responsável pela metilação do gene *ERK1*, promovendo a sua fosforilação e aumento da proliferação de células cancerosas (VOUGIOUKLAKIS et al., 2015).

A matriz extracelular é um dos componentes que apresenta maior abundância no ambiente tumoral, além de desempenhar um papel importante no processo de adesão, degradação, movimentação, hiperplasia e eliminação tumoral (BAO et al., 2019). No presente estudo, *let-7e-5p* e *let-7i-5p* foram previstos como reguladores dos genes de colágeno *COL3A1* e *COL1A2*. Diversos estudos mostraram que a desregulação desses genes estava associada à carcinogênese. Li e colaboradores (2019), por exemplo, demonstraram que, em adenocarcinoma gástrico, *COL1A2* foi um dos principais genes regulados positivamente e relacionados à iniciação e progressão desta patologia, associado a via de interação ECM-receptor (LI et al., 2019b). Em outra pesquisa com câncer gástrico, *COL1A2* também foi regulado positivamente e correlacionado ao tamanho e profundidade de invasão tumoral, bem como estava relacionado a menor sobrevida global (LI et al., 2016). *COL1A2* também foi superexpresso em câncer de bexiga não invasivo de músculo, onde evidenciou-se uma associação da alta expressão de *COL1A1* e *COL1A2* em pacientes com baixa sobrevida livre de progressão e sobrevida global (BROOKS et al., 2016). Liu e colaboradores, demonstraram ainda que a inibição/silenciamento de *COL1A3*, *CTCF* e *COL1A1*, inibiram o crescimento e a migração de células tumorais no câncer gástrico (LIU et al., 2021). Além disso, em estroma reativo elevado em câncer de próstata também foi observado uma alta expressão de genes de colágeno (ANDERSEN et al., 2018). Sendo assim, propomos que a regulação positiva de mRNAs desses genes, por meio da diminuição dos miRNAs responsáveis pela sua regulação, através do mecanismo de “esponja” de *KIAA0125* e *LINC00221*, pode ser um dos mecanismos moleculares importantes para a tumorigênese peniana, como representado na Figura 13, abrindo perspectivas dessas moléculas como potenciais alvos terapêuticos. Assim, sugerimos a realização de estudos funcionais para validar nossos achados.

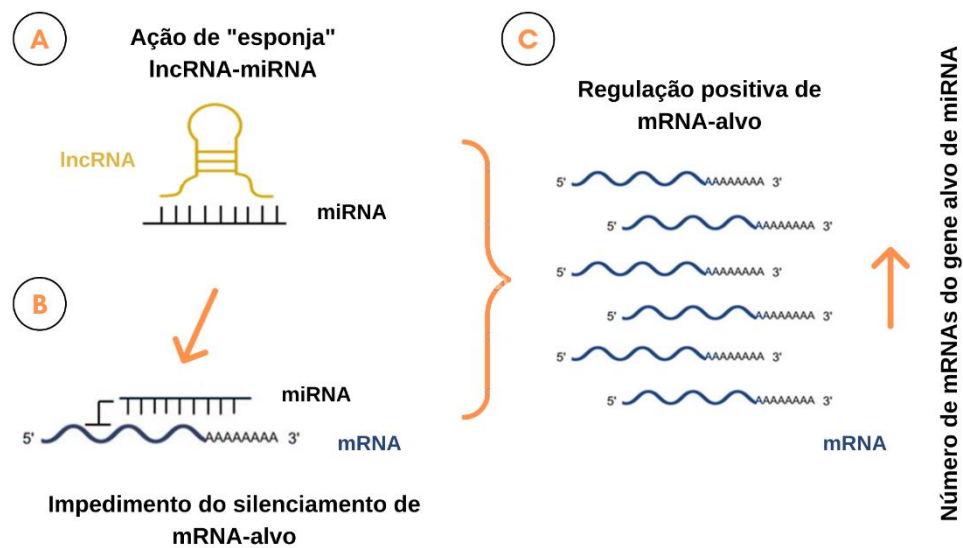


Figura 13. Representação de ação de “esponja” entre RNAs longos não-codificantes e miRNAs como potenciais mecanismos moleculares envolvidos na tumorigênese peniana.

6. CONCLUSÕES

Em conclusão, identificamos RNAs longos não-codificantes presentes em regiões cromossômicas com alterações no número de cópias em CaPe HPV-positivo, dos quais *KIAA0125*, *LINC00221* e *LINC00226* estavam amplificados em todas amostras tumorais e 41 lncRNAs em comum a outros tumores associados a HPV, que podem atuar como possíveis biomarcadores nessas patologias. Ademais, identificamos vias de sinalização através da predição de miRNAs e genes alvos desses lncRNAs em CaPe, no qual as principais foram degradação de lisinas e de interação matriz extracelular-receptor. Dessa maneira, disponibilizamos novos dados moleculares possivelmente envolvidos na carcinogênese peniana e com potencial uso como alvo terapêutico. Análises funcionais futuras devem ser realizadas para validar os resultados encontrados no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

ADASHEK, J. J.; NECCHI, A.; SPIESS, P. E. Updates in the molecular epidemiology and systemic approaches to penile cancer. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 37, n. 7, p. 403–408, jul. 2019.

AFONSO, L. et al. Human papillomavirus, Epstein-Barr virus, and methylation status of p16ink4a in penile cancer. **Journal of Medical Virology**, v. 89, n. 10, p. 1837–1843, 23 may 2017.

AMBELE, M.; VAN ZYL, A.; PEPPER, M. et al. Amplification of 3q26.2, 5q14.3, 8q24.3, 8q22.3, and 14q32.33 Are Possible Common Genetic Alterations in Oral Cancer Patients. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 2020.

AMERES, S. L.; ZAMORE, P. D. Diversifying microRNA sequence and function. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 14, n. 8, p. 475–488, ago. 2013.

ANASTASIADOU, E.; JACOB, L. S.; SLACK, F. J. Non-coding RNA networks in cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 18, n. 1, p. 5–18, jan. 2018.

ANDERSEN, M. K. et al. Integrative metabolic and transcriptomic profiling of prostate cancer tissue containing reactive stroma. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 14269, dez. 2018.

ARALDI, R. et al. The human papillomavirus (HPV)-related cancer biology: An overview. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1537–1556, out. 2018.

ARORA, S. et al. Integration of chemokine signaling with non-coding RNAs in tumor microenvironment and heterogeneity in different cancers. **Seminars in Cancer Biology**, v. 86, p. 720–736, nov. 2022.

AYDIN, A.; CHERIYAN, S.; SPIESS, P. Treating advanced penile cancer: where do we stand in 2019? **Current Opinion in Supportive & Palliative Care**, v. 13, n. 3, p. 249–254, set. 2019.

AYOUBIAN, H. et al. miRNA Expression Characterizes Histological Subtypes and Metastasis in Penile Squamous Cell Carcinoma. **Cancers**, v. 13, n. 6, p. 1480, 23 mar. 2021.

BALACHANDRA, S. et al. Blood-based biomarkers of human papillomavirus-associated cancers: A systematic review and meta-analysis. **Cancer**, v. 127, n. 6, p. 850–864, 3 dez. 2020.

BAO, Y. et al. Transcriptome profiling revealed multiple genes and ECM-receptor interaction pathways that may be associated with breast cancer. **Cellular & Molecular Biology Letters**, v. 24, n. 1, p. 38, dez. 2019.

BANDINI, M. et al. A global approach to improving penile cancer care. **Nature Reviews Urology**, v. 19, n. 4, p. 231–239, abr. 2022.

BARZON, L. et al. Profiling of Expression of Human Papillomavirus-Related Cancer miRNAs in Penile Squamous Cell Carcinomas. **The American Journal of Pathology**, v. 184, n. 12, p. 3376–3383, dez. 2014.

BHATTI, G. K. et al. Emerging role of non-coding RNA in health and disease. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, n. 6, p. 1119–1134, ago. 2021.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89–95, mar. 2001.

BLEEKER, M. et al. Penile cancer: epidemiology, pathogenesis and prevention. **World Journal of Urology**, v. 27, n. 2, p. 141–150, 8 jul. 2008.

BRASIL. Painel Oncologia do Ministério da Saúde. **Ministério da Saúde**. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/dhdat.exe?PAINEL_ONCO/PAINEL_ONCOLOGIABR.def. Acesso em: 17/11/2022.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, nov. 2018.

BROCKDORFF, N. Noncoding RNA and Polycomb recruitment. **RNA**, v. 19, n. 4, p. 429–442, abr. 2013.

BRÖHM, A. et al. Somatic Cancer Mutations in the SUV420H1 Protein Lysine Methyltransferase Modulate Its Catalytic Activity. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 17, p. 3068–3080, ago. 2019.

BROOKS, M. et al. Positive association of collagen type I with non-muscle invasive bladder cancer progression. **Oncotarget**, v. 7, n. 50, p. 82609–82619, 13 dez. 2016.

CAI, B. et al. LncRNA-Six1 Encodes a Micropeptide to Activate Six1 in Cis and Is Involved in Cell Proliferation and Muscle Growth. **Frontiers in Physiology**, v. 8, p. 230, 20 abr. 2017.

CALIFF, R. M. Biomarker definitions and their applications. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 3, p. 213–221, fev. 2018.

CANTO, L. M. et al. Mutational Signature and Integrative Genomic Analysis of Human Papillomavirus-Associated Penile Squamous Cell Carcinomas from Latin American Patients. **Cancers**, v. 14, n. 14, p. 3514, 20 jul. 2022.

CHEN, L.-L. Linking Long Noncoding RNA Localization and Function. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 41, n. 9, p. 761–772, set. 2016.

CHEN, L.-L.; YANG, L. Regulation of circRNA biogenesis. **RNA Biology**, v. 12, n. 4, p. 381–388, 3 abr. 2015.

CHEN, W. et al. The function of ncRNAs in rheumatic diseases. **Epigenomics**, v. 11, n. 7, p. 821–833, may 2019.

CHRISTODOULIDOU, M. et al. Epidemiology of penile cancer. **Current Problems in Cancer**, v. 39, n. 3, p. 126–136, may 2015.

COELHO, R. W. P. et al. Penile cancer in Maranhão, Northeast Brazil: the highest incidence globally? **BMC Urology**, v. 18, n. 1, p. 50, dez. 2018.

CORRÀ, F. et al. The Network of Non-coding RNAs in Cancer Drug Resistance. **Frontiers in Oncology**, v. 8, p. 327, 29 ago. 2018.

COSPER, P. et al. Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. **Seminars in Radiation Oncology**, v. 31, n. 4, p. 265–273, out. 2021.

CURY, S. S. et al. Interplay Between Immune and Cancer-Associated Fibroblasts: A Path to Target Metalloproteinases in Penile Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 12, p. 935093, 19 jul. 2022.

- DALING, J. R. et al. Penile cancer: Importance of circumcision, human papillomavirus and smoking in situ and invasive disease. **International Journal of Cancer**, v. 116, n. 4, p. 606–616, 2005.
- DAHARIYA, S. et al. Long non-coding RNA: Classification, biogenesis and functions in blood cells. **Molecular Immunology**, v. 112, p. 82–92, ago. 2019.
- DEUS, A. **Diversidade Bacteriana em Carcinoma Peniano: Uma Abordagem Microbiômica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Maranhão. São Luís. 2022.
- DINIZ, M. G. et al. The long noncoding RNA KIAA0125 is upregulated in ameloblastomas. **Pathology - Research and Practice**, v. 215, n. 3, p. 466–469, mar. 2019.
- DONG, J.; THRIFT, A. P. Alcohol, smoking and risk of oesophago-gastric cancer. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 31, n. 5, p. 509–517, out. 2017.
- DONG, L. et al. LncRNA ARST is a Novel Prognostic and Diagnostic Biomarker for Colorectal Cancer. **Cancer Management and Research**, v. Volume 14, p. 19–24, jan. 2022.
- DONG, P. et al. Exploring lncRNA-Mediated Regulatory Networks in Endometrial Cancer Cells and the Tumor Microenvironment: Advances and Challenges. **Cancers**, v. 11, n. 2, p. 234, 16 fev. 2019.
- DOORBAR, J. et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. **Vaccine**, v. 30, p. F55–F70, nov. 2012.
- DRÄGER, D. et al. Psychosoziale Auswirkungen bei Patienten mit Peniskarzinom. **Der Urologe**, v. 57, n. 4, p. 444–452, 23 fev. 2018.
- ELST, L.; ALBERSEN, M. HPV Vaccination: Does It Have a Role in Preventing Penile Cancer and Other Preneoplastic Lesions? **Seminars in Oncology Nursing**, v. 38, n. 3, p. 151284, jun. 2022.
- EMMANUEL, A. et al. The molecular pathogenesis of penile carcinoma—current developments and understanding. **Virchows Archiv**, v. 475, n. 4, p. 397–405, out. 2019.
- FAGHIHI, M. A. et al. Expression of a noncoding RNA is elevated in Alzheimer's disease and drives rapid feed-forward regulation of β -secretase. **Nature Medicine**, v. 14, n. 7, p. 723–730, jul. 2008.
- FAVORITO, L. A. et al. Epidemiologic study on penile cancer in Brazil. **International braz j urol**, v. 34, n. 5, p. 587–593, out. 2008.
- FEBER, A. et al. Epigenetics Markers of Metastasis and HPV-Induced Tumorigenesis in Penile Cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 21, n. 5, p. 1196–1206, 1 mar. 2015.
- FENG, C. et al. LncRNA MALAT1 Promotes Lung Cancer Proliferation and Gefitinib Resistance by Acting as a miR-200a Sponge. **Archivos de Bronconeumología** (English Edition), v. 55, n. 12, p. 627–633, dez. 2019.
- FERLITA, A. L. et al. Non-Coding RNAs in Endometrial Physiopathology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 7, p. 2120, 20 jul. 2018.

- FLAHERTY, A. et al. Implications for human papillomavirus in penile cancer. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 32, n. 1, p. 53.e1-53.e8, jan. 2014.
- FU, L. et al. Global Pattern and Trends in Penile Cancer Incidence: Population-Based Study. **JMIR Public Health and Surveillance**, v. 8, n. 7, p. e34874, 6 jul. 2022.
- FURUYA, T. et al. Disruption of miRNA-mRNA Networks Defines Novel Molecular Signatures for Penile Carcinogenesis. **Cancers**. 2021.
- GAO, J. et al. Integrative Analysis of Complex Cancer Genomics and Clinical Profiles Using the cBioPortal. **Science Signaling**, v. 6, n. 269, 2 abr. 2013.
- GOSPODAROWICZ, M.; BRIERLEY, J.; WITTEKIND, C. TNM Classification of Malignant Tumours. [s.l.] **John Wiley & Sons**, 2017.
- HAKENBERG, O. W. et al. The Diagnosis and Treatment of Penile Cancer. **Deutsches Ärzteblatt international**, 28 set. 2018.
- HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011.
- HANSEN, B. T. et al. Trends in incidence, mortality and survival of penile squamous cell carcinoma in Norway 1956-2015: Trends in penile squamous cell carcinoma. **International Journal of Cancer**, v. 142, n. 8, p. 1586–1593, 15 abr. 2018.
- HARRIS, R. A. et al. Frequency, variations, and prognostic implications of chromosome 14q32 deletions in chronic lymphocytic leukemia. **Leukemia Research**, v. 110, p. 106665, nov. 2021.
- HARTFORD, C. C. R.; LAL, A. When Long Noncoding Becomes Protein Coding. **Molecular and Cellular Biology**, v. 40, n. 6, p. e00528-19, 27 fev. 2020.
- HUANG, M. et al. LINC00221 suppresses the malignancy of children acute lymphoblastic leukemia. **Bioscience Reports**, v. 40, n. 5, p. BSR20194070, 29 may 2020.
- HUANG, J.-Z. et al. A Peptide Encoded by a Putative lncRNA HOXB-AS3 Suppresses Colon Cancer Growth. **Molecular Cell**, v. 68, n. 1, p. 171- 184.e6, out. 2017.
- HUARTE, M.; RINN, J. L. Large non-coding RNAs: missing links in cancer? **Human Molecular Genetics**, v. 19, n. R2, p. R152–R161, 15 out. 2010.
- HUNG, S. et al. The expression levels of long non-coding RNA *KIAA0125* are associated with distinct clinical and biological features in myelodysplastic syndromes. **British Journal of Haematology**, v. 192, n. 3, p. 589–598, fev. 2021.
- IBILIBOR, C. et al. RNA sequencing in a penile cancer cohort: an investigation of biomarkers of cisplatin resistance and potential therapeutic drug targets. **Clinical Genitourinary Cancer**, jan. 2022.
- INCA. Câncer de pênis. **Instituto Nacional de Câncer**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/assuntos/cancer-de-penis>. Acesso em 24/08/2022.

JEAN-QUARTIER, C. et al. In silico cancer research towards 3R. **BMC Cancer**, v. 18, n. 1, p. 408, dez. 2018.

JÚNIOR, A.; FILHO, M.; REIS, R. Urologia fundamental. São Paulo: **Planmark**, 2010.

KARAGKOUNI, D.; PARASKEVOPOULOU, M.; CHATZOPOULOS, S. et al. DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA– gene interactions. **Nucleic Acids Research**, v. 46, n. D1, p. D239–D245, 2017.

KARAGKOUNI, D.; PARASKEVOPOULOU, M.; TASTSOGLU, S. et al. DIANA-LncBase v3: indexing experimentally supported miRNA targets on non-coding transcripts. **Nucleic Acids Research**, 2019.

KATZENELLENBOGEN, R. Activation of telomerase by HPVs. **Virus Research**, v. 231, p. 50–55, mar. 2017.

KAZEMZADEH, M.; SAFARALIZADEH, R.; ORANG, A. V. LncRNAs: emerging players in gene regulation and disease pathogenesis. **Journal of Genetics**, v. 94, n. 4, p. 771–784, dez. 2015.

KHANSARI, N.; SHAKIBA, Y.; MAHMOUDI, M. Chronic Inflammation and Oxidative Stress as a Major Cause of Age- Related Diseases and Cancer. **Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery**, v. 3, n. 1, p. 73–80, 1 jan. 2009.

KHORKOVA, O.; HSIAO, J.; WAHLESTEDT, C. Basic biology and therapeutic implications of lncRNA. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 87, p. 15–24, jun. 2015.

KIM, H.-S. et al. High WHSC1L1 Expression Reduces Survival Rates in Operated Breast Cancer Patients with Decreased CD8+ T Cells: Machine Learning Approach. **Journal of Personalized Medicine**, v. 11, n. 7, p. 636, 5 jul. 2021.

KRUK, J.; ABOUL-ENEIN, H. Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Carcinogenesis: Implications of Oxidative Stress on the Progression and Development of Several Cancer Types. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 11, 15 jun. 2017.

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

KUASNE, H. et al. Integrative miRNA and mRNA analysis in penile carcinomas reveals markers and pathways with potential clinical impact. **Oncotarget**, v. 8, n. 9, p. 15294–15306, 28 fev. 2017.

KUMAR GUPTA, A.; KUMAR, M. HPVbase – a knowledgebase of viral integrations, methylation patterns and microRNAs aberrant expression: As potential biomarkers for Human papillomaviruses mediated carcinomas. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 12522, dez. 2015.

LAMELAS, L. **Revisión bibliográfica: análisis del papel de los LncRNAs en el cáncer**. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/2183/29250>>. 2021.

LARKE, N. et al. Male circumcision and penile cancer: a systematic review and meta-analysis. **Cancer Causes & Control**, v. 22, n. 8, p. 1097–1110, 22 jun. 2011.

LEANDRO, J.; HOUTEN, S. M. Saccharopine, a lysine degradation intermediate, is a mitochondrial toxin. **Journal of Cell Biology**, v. 218, n. 2, p. 391–392, 4 fev. 2019.

LI, D. et al. Downregulation of LINC01140 is associated with adverse features of breast cancer. **Oncology Letters**, 25 nov. 2019.

LI, J.; DING, Y.; LI, A. Identification of COL1A1 and COL1A2 as candidate prognostic factors in gastric cancer. **World Journal of Surgical Oncology**, v. 14, n. 1, p. 297, dez. 2016.

LI, L. et al. FN1, SPARC, and SERPINE1 are highly expressed and significantly related to a poor prognosis of gastric adenocarcinoma revealed by microarray and bioinformatics. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 7827, dez. 2019.

LI, P. et al. MALAT1 Is Associated with Poor Response to Oxaliplatin-Based Chemotherapy in Colorectal Cancer Patients and Promotes Chemoresistance through EZH2. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 16, n. 4, p. 739–751, 1 abr. 2017.

LI, X. Insights into lncRNAs in Alzheimer's disease mechanisms. **RNA Biology**, v. 18, n. 7, p. 1037–1047, 3 jul. 2021.

LI, X.-X. et al. Identification of Long Noncoding RNAs as Predictors of Survival in Triple-Negative Breast Cancer Based on Network Analysis. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–15, 4 mar. 2020.

LIANG, F. et al. Gene Index analysis of the human genome estimates approximately 120,000 genes. **Nature Genetics**, v. 25, n. 2, p. 239–240, 1 jun. 2000.

LIANG, W.-C. et al. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer. **Oncotarget**, v. 6, n. 26, p. 22513–22525, 9 set. 2015.

LIU, C. et al. Zinc Finger Protein CTCF Regulates Extracellular Matrix (ECM)-Related Gene Expression Associated With the Wnt Signaling Pathway in Gastric Cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 625633, 16 fev. 2021.

LV, Y.; WANG, Y.; ZHANG, Z. Potentials of lncRNA–miRNA–mRNA networks as biomarkers for laryngeal squamous cell carcinoma. **Human Cell**, 1 out. 2022.

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 *RBI* in penile cancer. **Molecular Carcinogenesis**, v. 59, n. 6, p. 604–617, jun. 2020.

MANIVA T. Análise de fatores prognósticos e expressão imuno-histoquímica da proteína ki67 de pacientes com câncer de pênis que foram submetidos a linfadenectomia regional no estado do maranhão. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, 2018.

MARCHI, F. A. et al. Multidimensional integrative analysis uncovers driver candidates and biomarkers in penile carcinoma. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 6707, dez. 2017.

- MATHY, N. W.; CHEN, X.-M. Long non-coding RNAs (lncRNAs) and their transcriptional control of inflammatory responses. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 30, p. 12375–12382, jul. 2017.
- MATTHEWS, H. K.; BERTOLI, C.; DE BRUIN, R. A. M. Cell cycle control in cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 1, p. 74–88, jan. 2022.
- MATSUMOTO, A. et al. mTORC1 and muscle regeneration are regulated by the LINC00961-encoded SPAR polypeptide. **Nature**, v. 541, n. 7636, p. 228–232, jan. 2017.
- MCINNES, R. R.; WILLARD, H. F; NUSSBAUM. **Thompson & Thompson Genética Médica**. [s.l.]: Elsevier Brasil, 2016.
- MIN, K.-W. et al. eIF4E phosphorylation by MST1 reduces translation of a subset of mRNAs, but increases lncRNA translation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1860, n. 7, p. 761–772, jul. 2017.
- MIRANDA, K. C. et al. A Pattern-Based Method for the Identification of MicroRNA Binding Sites and Their Corresponding Heteroduplexes. **Cell**, v. 126, n. 6, p. 1203–1217, 2006.
- MOCH, H. et al. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. **European Urology**, v. 70, n. 1, p. 93–105, jul. 2016.
- MOCH, H. et al. The 2022 World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. **European Urology**, v. 82, n. 5, p. 458–468, nov. 2022.
- MONTES CARDONA, 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.
- MORRIS, B. J. et al. The Strong Protective Effect of Circumcision against Cancer of the Penis. **Advances in Urology**, v. 2011, p. 1–21, 2011.
- NGUYEN, L. D.; CHAU, R. K.; KRICHEVSKY, A. M. Small Molecule Drugs Targeting Non-Coding RNAs as Treatments for Alzheimer’s Disease and Related Dementias. **Genes**, v. 12, n. 12, p. 2005, 17 dez. 2021.
- NOHATA, N.; ABBA, M. C.; GUTKIND, J. S. Unraveling the oral cancer lncRNAome: Identification of novel lncRNAs associated with malignant progression and HPV infection. **Oral Oncology**, v. 59, p. 58–66, ago. 2016.
- OLESEN, T. B. et al. Incidence of penile intraepithelial neoplasia and incidence and survival of penile cancer in Denmark, 1997 to 2018. **Cancer Causes & Control**, v. 33, n. 1, p. 117–123, 26 out. 2021.
- OLIVEIRA, R. et al. Prevenção do câncer de pênis e a valorização da saúde do homem. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 2, p. 1527–1530, 2020.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Câncer**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>. Acesso em: 02/10/2022.

- PAULI, A. et al. Toddler: An Embryonic Signal That Promotes Cell Movement via Apelin Receptors. **Science**, v. 343, n. 6172, p. 1248636–1248636, 14 fev. 2014.
- PETA, E. et al. Down-regulation of microRNA-146a is associated with high-risk human papillomavirus infection and epidermal growth factor receptor overexpression in penile squamous cell carcinoma. **Human Pathology**, v. 61, p. 33–40, mar. 2017.
- PHILIPPOU, P. et al. Conservative Surgery for Squamous Cell Carcinoma of the Penis: Resection Margins and Long-Term Oncological Control. **Journal of Urology**, v. 188, n. 3, p. 803–808, set. 2012.
- PRENSNER, J. R.; CHINNAIYAN, A. M. The Emergence of lncRNAs in Cancer Biology. **Cancer Discovery**, v. 1, n. 5, p. 391–407, 1 out. 2011.
- PROTZEL, C.; HAKENBERG, O. Peniskarzinom. **Der Urologe**, v. 59, n. 2, p. 209–218, fev. 2020.
- QUINN, J. J.; CHANG, H. Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, n. 1, p. 47–62, jan. 2016.
- RAHAL, Z. et al. Smoking and Lung Cancer: A Geo-Regional Perspective. **Frontiers in Oncology**, v. 7, p. 194, 1 set. 2017.
- RAPÔSO, M. et al. A educação em saúde e a prevenção do câncer de pênis. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - alagoas**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 177, 2017.
- ROGAWSKI D., DENG J., LI H. et al. Discovery of first-in-class inhibitors of ASH1L histone methyltransferase with anti-leukemic activity. **Nat Commun**. 2021.
- RONA, G. B. et al. The PWWP domain of the human oncogene WHSC1L1/NSD3 induces a metabolic shift toward fermentation. **Oncotarget**, v. 8, n. 33, p. 54068–54081, 15 ago. 2017.
- SAFRAN, M. et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator. **Database**, v. 2010, n. 0, p. baq020–baq020, 5 ago. 2010.
- SALOURA, V. et al. WHSC1L1 drives cell cycle progression through transcriptional regulation of CDC6 and CDK2 in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Oncotarget**, v. 7, n. 27, p. 42527–42538, 5 jul. 2016.
- SHI, Z. et al. Whole-exome sequencing revealed mutational profiles of giant cell glioblastomas. **Brain Pathology**, v. 29, n. 6, p. 782–792, nov. 2019.
- SILVA, J. DA et al. HPV-associated penile cancer: Impact of copy number alterations in miRNA/mRNA interactions and potential druggable targets. **Cancer Biomarkers**, v. 32, n. 2, p. 147–160, 24 set. 2021.
- SOARES, A. et al. Penile cancer: a Brazilian consensus statement for low- and middle-income countries. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 146, n. 12, p. 3281–3296, dez. 2020.
- SONG, Y. et al. Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer. **Nature**, v. 509, n. 7498, p. 91–95, may 2014.

SOTO, D.; SONG, C.; MCLAUGHLIN-DRUBIN, M. E. Epigenetic Alterations in Human Papillomavirus-Associated Cancers. **Viruses**, v. 9, n. 9, p. 248, 1 set. 2017.

SPIESS, P. et al. Pathophysiological basis of human papillomavirus in penile cancer: Key to prevention and delivery of more effective therapies. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 66, n. 6, p. 481–495, 17 jun. 2016.

STANLEY, M. HPV vaccination in boys and men. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 10, n. 7, p. 2109–2111, 8 may 2014.

STATELLO, L. et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 22, n. 2, p. 96–118, 22 dez. 2020.

STEIN, C. S. et al. Mitoregulin: A lncRNA-Encoded Microprotein that Supports Mitochondrial Supercomplexes and Respiratory Efficiency. **Cell Reports**, v. 23, n. 13, p. 3710–3720.e8, jun. 2018.

TANG, H. et al. Linc00221 modulates cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer via sponging miR-519a. **Biochimie**, v. 162, p. 134–143, jul. 2019.

TANIUE, K.; AKIMITSU, N. The Functions and Unique Features of lncRNAs in Cancer Development and Tumorigenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 2, p. 632, 10 jan. 2021.

THE ENCODE PROJECT CONSORTIUM. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. **Nature**, v. 447, n. 7146, p. 799–816, jun. 2007.

THOMAS, A. et al. Penile cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, 11 fev. 2021.

TRIPATHI, M. K. et al. Role of lncRNAs in ovarian cancer: defining new biomarkers for therapeutic purposes. **Drug Discovery Today**, v. 23, n. 9, p. 1635–1643, set. 2018.

TSAI, C.-Y. et al. Aberrant non-coding RNA expression profiles as biomarker/bio-signature in autoimmune and inflammatory rheumatic diseases. **Journal of Laboratory and Precision Medicine**, v. 3, p. 51–51, jun. 2018.

VANTHOOR, J.; VOS, G.; ALBERSEN, M. Penile cancer: potential target for immunotherapy? **World Journal of Urology**, v. 39, n. 5, p. 1405–1411, may 2021.

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, p. 2965, dez. 2020.

VIEIRA, G. V. et al. Proteases and HPV-Induced Carcinogenesis. **Cancers**, v. 14, n. 13, p. 3038, 21 jun. 2022.

VLACHOS, I. S. et al. DIANA-miRPath v3.0: deciphering microRNA function with experimental support. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. W1, p. W460–W466, 14 maio 2015.

VOUGIOUKLAKIS, T. et al. SUV420H1 enhances the phosphorylation and transcription of ERK1 in cancer cells. **Oncotarget**, v. 6, n. 41, p. 43162–43171, 22 dez. 2015.

WANG, E. et al. Non-coding RNAs in Alzheimer's disease: perspectives from omics studies. **Human Molecular Genetics**, v. 31, n. R1, p. R54–R61, 20 out. 2022.

WANG, Y. et al. Mutational landscape of penile squamous cell carcinoma in a Chinese population. **International Journal of Cancer**, v. 145, n. 5, p. 1280–1289, set. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: REGIONAL OFFICE FOR EUROPE. **WORLD CANCER REPORT: cancer research for cancer development**. Place of publication not identified: IARC, 2020.

WU, T.; DU, Y. LncRNAs: From Basic Research to Medical Application. **International Journal of Biological Sciences**, v. 13, n. 3, p. 295–307, 2017.

WU, P. et al. Emerging role of tumor-related functional peptides encoded by lncRNA and circRNA. **Molecular Cancer**, v. 19, n. 1, p. 22, dez. 2020.

WU, X. et al. DNA copy number gain-mediated lncRNA LINC01061 upregulation predicts poor prognosis and promotes papillary thyroid cancer progression. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 503, n. 3, p. 1247–1253, set. 2018.

XIE, L. et al. The Roles of lncRNA in Myocardial Infarction: Molecular Mechanisms, Diagnosis Biomarkers, and Therapeutic Perspectives. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, p. 680713, 16 set. 2021.

XU, B. et al. Novel role of ASH1L histone methyltransferase in anaplastic thyroid carcinoma. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 26, p. 8834–8845, jun. 2020.

YAN, P. et al. In silico analyses for potential key genes associated with gastric cancer. **PeerJ**, v. 6, p. e6092, 7 dez. 2018.

YANG, L. et al. LINC00221 silencing prevents the progression of hepatocellular carcinoma through let-7a-5p-targeted inhibition of MMP11. **Cancer Cell International**, v. 21, n. 1, p. 202, dez. 2021.

YANG, X.; QU, Y.; ZHANG, J. Up-Regulated lncRNA FEZF1-AS1 Promotes the Progression of Cervical Carcinoma Cells via MiR-367-3p/SLC12A5 Signal Axis. **Archives of Medical Research**, v. 53, n. 1, p. 9–19, jan. 2022.

YANG, Y. et al. lncRNA KIAA0125 functions as a tumor suppressor modulating growth and metastasis of colorectal cancer via Wnt/ β -catenin pathway. **Cell Biology International**, v. 43, n. 12, p. 1463–1470, dez. 2019.

YAN, H.; BU, P. Non-coding RNA in cancer. **Essays in Biochemistry**, v. 65, n. 4, p. 625–639, 27 out. 2021.

YE, J.; LI, J.; ZHAO, P. Roles of ncRNAs as ceRNAs in Gastric Cancer. **Genes**, v. 12, n. 7, p. 1036, 2 jul. 2021.

YOKOYAMA, Y. et al. Loss of histone H4K20 trimethylation predicts poor prognosis in breast cancer and is associated with invasive activity. **Breast Cancer Research**, v. 16, n. 3, p. R66, jun. 2014.

YU, X. et al. Analysis of distinct long noncoding RNA transcriptional fingerprints in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Cancer Medicine**, v. 6, n. 3, p. 673-680, 2017.

XU, J. et al. The role of lncRNA-mediated ceRNA regulatory networks in pancreatic cancer. **Cell Death Discovery**, v. 8, n. 1, p. 287, 14 jun. 2022.

ZARGAR-SHOSHTARI, K. et al. Clinical Significance of p53 and p16ink4a Status in a Contemporary North American Penile Carcinoma Cohort. **Clinical Genitourinary Cancer**, v. 14, n. 4, p. 346–351, ago. 2016.

ZENG, Q. et al. Role of PIWI -interacting RNAs on cell survival: Proliferation, apoptosis, and cycle. **IUBMB Life**, v. 72, n. 9, p. 1870–1878, set. 2020.

ZENG, X. et al. Research progress on the circRNA/lncRNA-miRNA-mRNA axis in gastric cancer. **Pathology - Research and Practice**, v. 238, p. 154030, out. 2022.

ZEQUI, S. et al. Sex with Animals (SWA): Behavioral Characteristics and Possible Association with Penile Cancer. A Multicenter Study. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 9, n. 7, p. 1860–1867, jul. 2012.

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, 9 jul. 2015.

ZHAO, Z. et al. Mechanisms of lncRNA/microRNA interactions in angiogenesis. **Life Sciences**, v. 254, p. 116900, ago. 2020.

ZHONG, Q. et al. Eight-lncRNA signature of cervical cancer were identified by integrating DNA methylation, copy number variation and transcriptome data. **Journal of Translational Medicine**, v. 19, n. 1, p. 58, dez. 2021.

ANEXOS

Anexo A – Termo de Consentimento Livre Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INFORMAÇÕES PARA OS PACIENTES, RESPONSÁVEIS E FAMILIARES

Você está sendo convidado a participar voluntariamente do projeto de pesquisa **“ANÁLISE DE ALTERAÇÕES GENÔMICAS E NA EXPRESSÃO GÊNICA EM CÂNCER PENIANO NO ESTADO MARANHÃO”**

Leia atentamente as informações a seguir antes de dar o seu consentimento. No caso de não entender bem peça mais esclarecimento e só assine após ter certeza de ter esclarecido todas as suas dúvidas.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO ESTUDO

O aparecimento de tumor no pênis é um fato não muito raro no Estado do Maranhão. Isso pode acontecer por diferentes motivos. Esta pesquisa tem como principal objetivo estudar as possíveis causas para o surgimento dessa doença, principalmente os aspectos relacionados com a presença do vírus HPV e alterações no DNA (material responsável por toda informação necessária para o bom funcionamento do corpo).

De que forma posso auxiliar neste estudo?

Você pode auxiliar autorizando que o material resultante da cirurgia para remoção do tumor e os resultados dos exames possam ser utilizados nesta pesquisa.

Quais os riscos e limites que podem ser encontrados nos exames?

O paciente não terá nenhum risco a mais, pois todo o procedimento cirúrgico será realizado conforme a prescrição médica.

Os resultados obtidos para essa pesquisa são absolutamente confidenciais, portanto, serão comunicados somente à pessoa ou responsável e ao profissional médico que acompanha o paciente. A comunicação dos resultados a terceiros só poderá ser realizada mediante autorização do interessado.

É raro, mas é possível, que por problemas técnicos, o exame forneça resultados inconclusivos.

Como será feita esta pesquisa?

As pessoas serão convidadas a participar da pesquisa. Receberão uma cópia deste documento que deverá ser lido, entendido e assinado. Os participantes serão atendidos pelo médico que fará algumas perguntas, examinará o paciente e, se necessário, poderá solicitar alguns exames complementares.

Quais os benefícios e malefícios deste estudo? Não haverá nenhuma vantagem direta, tal como remuneração de qualquer ordem, com a participação neste estudo, porém, os resultados poderão ajudar a entender o porquê e de que forma a doença apareceu e contribuirá futuramente para a melhoria do diagnóstico e tratamento dessa patologia.

O que vai ser feito com o material e os dados coletados de cada paciente?

O material e a ficha-protocolo com resultados dos exames dos pacientes serão armazenados no Laboratório de Genética e Biologia Molecular - Universidade Federal do Maranhão (UFMA). As amostras serão registradas por números, para evitar identificação dos pacientes. A identificação dos pacientes será mantida em sigilo absoluto e estará sob a guarda dos pesquisadores responsáveis.

A pessoa ou responsável legal poderá escolher entre ser informado ou não dos resultados do estudo; aqueles que se interessarem em saber sobre os resultados obtidos com o presente estudo serão orientados pela coordenadora geral do Projeto, Dra. Silma Regina Ferreira Pereira (professora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Maranhão), podendo ser

contactada no Laboratório de Genética e Biologia Molecular, no endereço: Av. dos Portugueses, 1966, cidade universitária do Campus do Bacanga, São Luis, Maranhão, telefone 32728543.

Os pacientes que não concordarem em participar da pesquisa não terão nenhum prejuízo sobre seu tratamento.

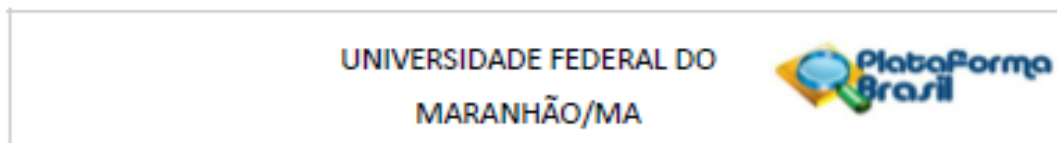
Declaro que fui devidamente esclarecido sobre a pesquisa da qual estou sendo convidado a participar, e que CONCORDO, voluntariamente, em participar do referido trabalho.

São Luís, ____ de _____ de ____ 20__

NOME POR EXTENSO/RG

Assinatura

Anexo B – Parecer de Aprovação do Comitê de Ética



ANEXO B - Parecer de aprovação do Comitê de Ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DE ALTERAÇÕES GENÔMICAS E NA EXPRESSÃO GÊNICA E PROTEICA EM CÂNCER PENIANO

Pesquisador: SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46371515.5.0000.5087

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Patrocinador Principal: FUND DE AMPARO A PESQUISA AO DESEN CIENTIFICO E TECNOLÓGICO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.308.275

Apresentação do Projeto:

O câncer de pênis (CP) é uma neoplasia rara em países desenvolvidos. No entanto, sua incidência é mais elevada em países em desenvolvimento, como o Brasil, sendo mais prevalente nas regiões Norte e Nordeste. Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) esse tipo de tumor representa 2% de todos os tipos de câncer que atingem o homem, tendo sido registrados 363 mortes no ano de 2010. De acordo com a SBU, em 2007, o Maranhão teve 10,7% dos casos de câncer de pênis notificados no Brasil, estando entre os cinco estados onde há maior prevalência, sendo superior até mesmo que o câncer de próstata. No entanto, faz-se necessário a realização de um estudo epidemiológico mais robusto e atualizado para que seja conhecida a realidade sobre a ocorrência dessa patologia no Estado.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1906 CEB Velho		CEP: 65.080-040
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética	Município: SAO LUIS	
UF: MA		
Telefone: (98)3272-8708	Fax: (98)3272-8708	E-mail: cepufma@ufma.br

A etiologia é heterogênea, mas estudos mostram uma relação com baixas condições socioeconômicas e de instrução, a má higiene íntima e a homens que não se submeteram à circuncisão. Apesar da alta prevalência de câncer peniano no Brasil, dados epidemiológicos, análise do background genético, parâmetros clínicos, evolução da doença e resposta aos tratamentos, ainda são incipientes, o que dificulta o diagnóstico, prognóstico e tratamento da doença e, conseqüentemente, resulta nos altos índices de diagnóstico em estágios avançados e mortalidade. A caracterização de alterações genômicas e de expressão gênica apresenta grande potencial para a identificação de marcadores moleculares e vêm contribuindo para o desenvolvimento de novas terapias em uma série de cânceres humanos. Neste sentido, propomos, por meio de análises de array-CGH, alteração no número de cópias (CNA), miRNAs, e análise de expressão gênica e proteica, a identificação de marcadores moleculares em tumores penianos de pacientes provenientes do Estado do Maranhão, normalmente diagnosticados em estágios clínicos avançados, onde o risco de recorrência tumoral é elevado. Os perfis genômicos observados serão validados através de análises gênicas específicas e funcionais, incluindo as principais vias de sinalização celular identificadas. Estas análises podem, futuramente, contribuir para a redução da taxa de mortalidade por estes tumores, pela predição do prognóstico em uma fase inicial do atendimento clínico, bem como pela escolha adequada do tratamento, propiciando uma resposta terapêutica satisfatória.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificar alterações genômicas e na expressão gênica e proteica em câncer de pênis, buscando a identificação de marcadores moleculares para este tipo de tumor.

Objetivo Secundário:

- Caracterizar os portadores de carcinomas penianos do Estado do Maranhão para o desenvolvimento de um registro epidemiológico específico para os homens do estado, a fim de identificar os principais fatores de risco e promover e incentivar ações preventivas.
- Identificar a presença de papilomavírus humano (HPV) e genotipar os subtipos virais.
- Identificar o perfil de alterações genômicas através do método de array-CGH.
- Identificar o perfil de expressão de miRNAs.
- Identificar alterações no número de cópias gênicas (CNA) por meio de qPCR.
- Integrar os dados de alterações de número de cópias de DNA com os de expressão de miRNA nas mesmas amostras tumorais.
- Avaliar alterações na expressão de genes específicos por meio de RT-PCR.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SAO LUIS
 Tel: (98)3272-6708 Fax: (98)3272-6708 E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



- Identificar, por citometria de fluxo e imunohistoquímica, variações na expressão de proteínas relacionadas as alterações genéticas detectadas nas células tumorais.
- Correlacionar as alterações observadas com parâmetros clínico-patológicos dos pacientes (tipo histológico, grau de estadiamento, tamanho do tumor). Incluindo dados de seguimento clínico (tempo livre da doença, recorrência tumoral, sobrevida, entre outros).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Este projeto confere riscos mínimos aos pacientes uma vez não será realizada nenhuma intervenção direta ou indireta para fins exclusivos desta pesquisa, mas somente aquelas previstas para o diagnóstico e tratamento dos sujeitos da pesquisa. As amostras biológicas a serem utilizadas serão provenientes de procedimentos cirúrgicos prescritos para os casos com diagnóstico clínico e anatomopatológico de câncer de pênis. A coleta dos fragmentos de tumor não implicará em riscos adicionais no tratamento ou na cirurgia, e nem tampouco, em aumento no tempo de operação ou extensão da mesma. Sob o aspecto emocional, os pacientes serão informados pela equipe médica, que sua participação na pesquisa não terá nenhuma influência sobre seu tratamento, de modo que eles devem se sentir livres para escolher entre participar ou não da pesquisa. Assim, é garantida a continuidade do acompanhamento, tratamento, assistência integral e orientação dos pacientes independentemente destes concordarem ou não em participar da pesquisa.

É garantida a manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa. Todos os dados da paciente são absolutamente confidenciais e, portanto, serão comunicados somente à paciente ou ao médico que a acompanha. As amostras biológicas, bem como as informações clínico-laboratoriais serão codificadas para registro em programa computacional específico, cuja acesso somente é possível através de senha de identificação única. Os resultados das análises genéticas para fins de divulgação científica sempre serão feitos considerando-se o grupo amostral, e não individualmente. Esses procedimentos garantem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de auto estima, de prestígio e/ou de aspectos econômico-financeiros, conforme previsto na resolução nº466, de 12 de dezembro de 2012.

Benefícios:

O material biológico será processado para análise de alterações moleculares e este trabalho deverá produzir resultados que não beneficiarão diretamente o sujeito da pesquisa, mas contribuirá para produção de conhecimento sobre a patologia para futuras investigações sobre possíveis marcadores genéticos moleculares diagnósticos e prognósticos.

Endereço: Avenida dos Portugueses, 3366 CEB Velho
Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética **CEP:** 65.080-040
UF: MA **Município:** SAO LUIS
Telefone: (98)32.72-5708 **Fax:** (98)32.72-5708 **E-mail:** cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



Os resultados obtidos nesta pesquisa serão comparados aos já existentes na literatura científica e serão tomados públicos, sejam eles favoráveis ou não.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está muito bem elaborada com um forte referencial teórico, bons objetivos, excelentes materiais e métodos, e demais elementos necessários ao bom andamento do projeto de pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Recomendações:

Todas as recomendações foram acatadas e corrigidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram acatadas ou esclarecidas e corrigidas pela pesquisadora e estão de acordo com a resolução 466/12 do CNS.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1366 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SAO LUIS
 Telefone: (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MARANHÃO/MA



Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_246615.pdf	29/10/2015 15:48:44		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALIME.pdf	29/10/2015 15:46:25	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAGYLEANES.pdf	29/10/2015 15:46:04	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALABGEM.pdf	29/10/2015 12:37:35	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CARTALabimunofisiologia.pdf	29/10/2015 12:31:36	SILMA REGINA FERREIRA PEREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAAnaPaula.pdf	29/10/2015 12:29:12	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CartaMartaBelfort.pdf	29/10/2015 12:23:47	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTALEUDIVAN.pdf	29/10/2015 12:23:15	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Outros	RESPOSTAAOPARECERcapenlano.p	28/10/2015 19:20:31	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Outros	FichaSujeitodapesquisa.pdf	28/10/2015 18:57:15	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuenciainstituicao.pdf	28/10/2015 18:56:25	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
	Anuenciainstituicao.pdf	28/10/2015 18:56:25	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	28/10/2015 18:53:22	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTARONALD.pdf	28/10/2015 18:48:31	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAJAQUELINE.pdf	28/10/2015 18:41:54	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAJuliana.pdf	28/10/2015 18:38:21	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTAcalthto.pdf	28/10/2015 18:38:00	SILMA REGINA FERREIRA	Aceito

Endereço: Avenida dos Portugueses, 1966 CEB Velho
 Bairro: Bloco C, Sala 7, Comitê de Ética CEP: 65.080-040
 UF: MA Município: SAO LUIS
 (98)3272-8708 Fax: (98)3272-8708 E-mail: cepufma@ufma.br

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 04 de novembro de 2015

Assinado por:

Richard Diego Leite (Coordenado)

APÊNDICES

Tabela Suplementar 1. Intersecção de genes presentes em regiões com alterações no número de cópias de carcinoma de células escamosas de cérvix, carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, câncer de pênis.

Tipo de câncer	Genes em comum	Nome dos lncRNAs
CESC/ HNSCC	344	<p>CD300LD-AS1 TRAF3IP2-AS1 FAM106A UMODLI-AS1 LINC00520 LINC00665 SSBP3-AS1 LINC00670 LINC00210 LINC00698 LINC00919 LINC00460 TMEM51-AS2 LINC01620 TMEM132E-DT LINC00208 LINC00261 ZNF22-AS1 LINC02870 LINC00608 LINC02901 LINC00656 FAM74A3 LINC00323 CDKN2A-DT FAM182B LINC01545 LINC00924 LINC00605 FAM138A LINC00381 LINC00841 LINC00330 LINC00619 TSPEAR-AS2 LINC00272 LINC00572 LINC00851 LINC00305 FAM218A SCP2D1-AS1 LINC00904 LINC02906 LINC01558 LINC02912 LINC00682 LINC00313 FAM66A LINC00613 LINC00971 DOCK8-AS1 LINC00960 LINC00639 LINC00636 LINC00471 LINC00629 LINC00348 LINC00887 LINC00863 LINC00229 B3GALT5-AS1 FAM41C LINC00928 FAM157A LINC01194 LINC00174 LINC00324 LINC02898 LINC00575 LINC00882 LINC00881 LINC00641 LINC00423 LINC01549 LINC00622 LINC00892 LINC00494 LINC01600 LINC00908 LINC01590 LINC00672 LRRC2-AS1 KRT10-AS1 LINC00662 LINC00316 LINC00379 LINC00900 LINC00652 DIP2C-AS1 FAM74A4 LINC00320 LINC01587 LINC02907 LINC00290 LINC00630 RB1-DT LINC00589 ATP1A1-AS1 LINC00523 LINC00189 LINC00571 LINC00858 LINC00102 LINC00304 GOLGA7B-DT LINC00877 LINC02913 LINC00115 LINC00676 LINC00970 LINC00563 LINC00452 LINC00685 LINC00598 LINC00865 LINC02868 LINC02209 FAM66C LINC00466 LINC00640 LINC00659 LINC00331 FAM182A LINC00421 LINC00339 LINC01550 LINC00888 IGF2BP2-AS1 LINC00955 ABHD11-AS1 PRDM10-DT LINC00184 LINC00479 LINC00607 FAM157B LINC00467 FAM66B LINC00545 LINC00312 LINC00603 LINC00424 LINC00114 FAM138C LINC00612 LINC00638 LINC02860 LINC02910 LINC00554 LINC00907 ZNF350-AS1 LINC00489 LINC00207 LINC00616 LINC00347 FAM167A-AS1 LINC02876 LINC00644 LINC01553 LINC02902 LINC00939 ATP13A3-DT FAM245A FAM99A LINC00526 LINC00592 FAM230B LINC00847 LINC00332 LINC00326 LINC00643 LINC01547 LINC00839 LINC00308 LINC00269 LINC00366 LINC00645 FAM66D PIK3CD-AS1 FAM95B1 PPP1R13B-DT LINC00583 LINC02874 LINC00574 LINC00469 OBSCN-AS1 LINC00160 LINC00482 ZNF407-AS1 LINC00499 LINC00623 LINC00442 LINC00173 LINC00898 LINC00906 LINC01556 LINC00941 FAM27E3 LINC00303 LINC00222 LINC00511 ARRDC1-AS1 PKD1L1-AS1 LINC00696 LINC00987 FAM27B LINC00565 LINC00879 LINC02693 LINC00917 LINC00862 EOLA1 -DT AH11-DT YWHAH-AS1 LINC01465 LINC00351 LINC01565 LINC00626 LINC00658 LINC02903 FAM138D EOLA2-DT LINC00974 FAM99B ST20-AS1 LINC01599 LINC00853 LINC02914 LINC00398 LINC00502 LINC00029 RNF32-DT LINC02897 LINC00667 LINC00473 FAM226A LINC00559 ZNF436-AS1 LINC00689 LINC00635 LINC00488 LINC00311 LINC00462 LINC02908 LINC00457 IBA57-DT LINC02877 LINC00922 FAM87B LINC01561 LINC00870 LINC00632 LINC00606 LINC01588 LINC00844 LINC00433 LINC00319 LINC00163 LINC00111 LINC01555 LINC00624 LINC00297 LINC00905 FAM27E2 LINC00609 LINC00933 LINC00327 LINC00674 LINC00395 LINC00358 LINC00899 LINC00528 LINC00885 LINC02911 LINC00446 LINC00551 LINC02875 LIN28B-AS1 LINC00867 LINC00664 LINC00333 LINC01546 LINC00544 LINC00920 LINC00582 LINC00654 LINC00852 FAM27C LINC02873 LINC00937 LINC02905 LINC00942 LINC00838 LINC00458 LINC00205 LINC00322 IRF1-AS1 LINC00930 LINC00052</p>

		FAM27E5 LINC00359 LINC00336 LINC00840 ADAMTSL4-AS1 KCNJ5- AS1 LINC00618 LINC00501 LINC00989 SPART-AS1 LINC00558 LINC00028 CIBAR1-DT FAM74A1 LINC00678 LINC00927 LINC00343 PRDM16-DT LINC00378 LINC00518 LINC00426 LINC01551 LINC00642 GAS8-AS1 LINC00661 LINC00880 LINC00578 LINC02904 LINC00648 LINC00886 LINC00443 LINC00477 LINC00845 LINC00681 EXOC3-AS1 LINC02909 LINC00687 LINC00410 LINC00242 LINC00470 LINC00940 LINC00112 FAM138E ICMT- DT LINC00310 LINC00353
CESEC/ PeCa	105	DDC-AS1 FER1L6-AS1 DNAJC27-AS1 LINC01346 LINC01247 PWARSN LINC01387 LINC01121 ASAP1-IT1 LINC01298 SAMD12-AS1 TP73-AS1 LINC01450 LINC01304 ZFH4-AS1 PWAR5 BAALC-AS1 ELMO1-AS1 LINC01301 RHPN1-AS1 HOXA-AS3 NR2F2-AS1 SHANK2-AS1 ASAP1 -IT2 L3MBTL4-AS1 LINC00997 LINC01111 LINC01448 OTUD6B-AS1 PWAR1 LINC01134 MSC-AS1 LINC01139 VSTM2A-OT1 RBM12B-AS1 LINC01566 LINC01246 SNHG15 HS1BP3-IT1 EGFR-AS1 GTF3C2-AS1 LINC00299 LINC01126 LINC01299 PSMG3-AS1 JAZF1-AS1 ZNF625-ZNF20 LINC01115 LINC01447 NTM -IT CHRM3-AS1 RAD21-AS1 ZNF252P-AS1 LINC01606 LINC01300 LINC01250 PRNCR1 LINC01591 MACC1-AS1 MEIS1-AS3 RMDN2-AS1 RNF216-IT1 POU6F2-AS1 LINC01592 HAS2-AS1 LINC01603 FAM83A-AS1 FOXL3-OT1 M AOAHT FAM83A-AS1 FOXL3-OT1 M AOAHT-AS1 TRG1-OT1 ASI NPSR1-AS1 SHANK2-AS3 UGDH-AS1 RAB11B-AS1 LINC01176 LINC01289 PARTICL CHRM3-AS2 GNAS-AS1 LINC01122 LINC01249 AGBL5-AS1 LINC00251 ID2-AS1 SLC8A1-AS1 LINC01118BAKDN LINC01449 PWAR4 CYP1B1-AS1 SIX3-AS1 FER1L6-AS2 STAU2-AS1 TONSL-AS1 LACTB2-AS1 LINC01030 LINC00487 LINC00298 LINC01446 LINC01628 LINC01119 INHBA-AS1 LOC100287846 LINC01248
HNSCC/ PeCa	7	CASC8 CCAT1 CASC9 HOTAIRM1 CCDC26 HOTTIP C8orf44
CESEC	1259	PITX1-AS1 LINC02080 ARHGAP5-AS1 PHEX-AS1 BEAN1-AS1 ZNF205-AS1 CEBPA-DT LINC00235 LINC01423 LINC01467 LY6E-DT EGFLAM-AS2 CRIM1-DT PRKAG2-AS1 LINC01569 SAMSN1-AS1 LINC02864PL LINC01523 EHBP1-AS1 OSMR-DT PL LINC01523 EHBP1-AS1 -AS1 LINC01005 PHACTR3-AS1 EHHADH-AS1 LINC02685 ABCC5-AS1 CNTN4-AS2 LINC03006 NTRK3-AS1 ADNP-AS1 PTPRG-AS1 LINC01360 MCPH1-DT LINC02817 LINC01744 LINC02363 BVES-AS1 SRRM2-AS1 TINC03020 SO43-DT LINC03020Z SO43-DT LINC03020Z SO43-DT GCSAML-AS1 LINC01097 LINC01138 RRS1-DT FAM170B-AS1 LINC01915 LINC01782 LINC01370 LINC02239 LINC01441 LINC01429 ZNF32-AS3 ARHGEF26-AS1 C2-AS1 PAK6-AS1 NAALADL2-AS3 ZNRD2-DT LINC01574 RAB30-DT USP12-DT TLR8-AS1 C2ORF74-DT PRICKLE2- AS2 KLF3-AS1 AP4B1-AS1 LINC01986 LINC00597 KCNIP2-AS1 RPH3AL-AS1 FRMD6-AS1 LINC02724 GPC1-AS1 DLX6-AS1 LINC01011 DPP9-AS1 LINC02499 FLVCR2-AS1 IDH1-AS1 DOCK9-AS1 ROPN1L-AS1 BIN3-IT1 LINC01804 C2CD4D-AS1 OGFR-AS1 RNFT1-DT BRWD1-AS1 LINC01260 LINT-AS1-DT LINC01270 LINC01822 LINC01186 DNAH17-AS1 LINC02064 OTX2-AS1 LINC01910 ZSWIM8-AS1 GNAO1-AS1 FRY-AS1 CD101-AS1 LINC02026 LINC01358 LINC01255 ZNF225-AS1 FAM230I MNX1-AS1 LZTS1-AS1 LINC01994 UBAC2-AS1 IGFBP7-AS1 LINC01168 LINC01502 GDNF-AS1 LINC01444 LINC01017 UBL7-DT LINC02275 SPANXA2-OT1 LINC01494 LINC01828 LINC01704 MYO16-AS1 LINC03019 MSANTD2-AS1 LINC02431 LINC01431 VPS13A-AS1 COX10-DT RARA-AS1 ITFG2-AS1 PCBP3-AS1 CHL1-AS1 NEGR1-IT1 LINC02102 LINC02607 PSMD6-AS2 ST7-AS1 PAX8-AS1 DENND5B-AS1 KCTD21-AS1 LINC01342 SMIM2-IT1 SLC16A1-AS1 LINC01093 ATP8B1-AS1 LINC01114 SERPINB9-AS1 A2M-AS1 BASP1-AS1 KCNAB1-AS1 KCNIP4-IT1 ZNF649-AS1 LINC02740 FOXN3-AS1 ADAMTS9-AS1 LINC02325 LMCD1-AS1 LINC01432 CADM2-AS2 TGFB2-AS1 LINC01364 CFAP20DC-AS1 LINC02298 LINC02888 PCDH9-AS4 LINC01929 LINC01237 NAV2-AS4 DLGAP1-AS4 FGF14-AS2 ALDH1L1-AS1 GPC5-AS1 LINC00408 LINC00239 GAS5-AS1 LINC02346 MRPL20-AS1 LINC01028 DPH5-DT GABPB1-AS1 LINC01282 LBX1-AS1 PEX5L-AS2 LINC02133 LINC01427 LINC01070 LINC02591 MCM8-AS1 MTUS2-AS1 LINC00965 SMAD1-AS2 LINC02359 EMC3-AS1 ILF3-DT LINC00548 LINC01233 KCNH7-AS1 LINC01206 PSMB8-AS1 LINC01907 LINC00380 LINC01951 CCNT2-AS1 NRG1-IT1 LINC02288 LINC01000 SEMA3B-AS1 CACNA2D3-AS1 CCDC28A-AS1 PSMD7-DT ITPR1-DT LINC01529 HIF1A-AS2 INTS6L-AS1 DICER1-AS1 PABPC5-AS1 LPP-AS1 LINC-PINT LINC01947 LOC101927572 LINC017G9 -DT LEMD1-AS1 LINC01659 CFLAR-AS1 LINC00896 BSN-DT RASAL2-AS1 LINC01800 LINC01103 DSCAM-IT1 LINC01814 LINC01993 LINC01213 DOCK9-DT DACT3-AS1 PCYT1B-AS1 LINC02801 KIF25-AS1 ADGRF5-AS1 VAV3-AS1 ANXA2R-OT1 LINC01205 AFF1-AS1 TM4SF1-AS1 LINC02052 LINC01919 FAS-AS1 NFIA-AS1 LINC01914 APIG2-AS1 KIF9-AS1 LINC01978 MID1IP1-AS1 PC ASI MAGI2-AS3 LINC03025 FLVCR1-DT KIREL3-AS2 TFAP2A-AS1 LINC01152 ZBTB46-AS1 C8ORF34-AS1 LINC01700 LINC02381 LINC02180 LINC01483 SLC44A3-AS1 SATB2-AS1 LINC02483 A1BG-AS1 FZD10-AS1 MORC2-AS1 LINC02447 LINC01776 FBXO22-AS1 NCMAP-DT FMRI -AS1 FAM106C SH3PXD2A-AS1 LINC01088 DAB1-AS1 LINC01790 LINC01140 ZNF571-AS1 FAM223A LNX1-AS1 RASSF8-AS1 LINC02138 MOCS2-DT LINC00850 LINC02764 VAC14-AS1 LINC01098 MCF2L-AS1 FAM87A LINC00921 MAP3K14-AS1 LINC01440 RTCA-AS1 FAM181A-AS1 LINC02987 LINC02996 CNN3 -DT KMT2E-AS1 ZNF652-AS1 LINC02396 DDHD1-DT ASH1L-AS1 LINC01222 SMIM15-AS1 PTPRN2-AS1 ISM1-AS1 LINC02044 MAPK10-AS1 UXT-AS1 POU2F2-AS1 CACNA1C-AS4 NAPA-AS1 BTG2-DT DSCAM-AS1 CACNA1C-IT3 MELTF-AS1 PCOLCE-AS1 LINC01979 AFDN-DT CD109-AS1 RNPC3-DT TIPARP-AS1 PPEF1-AS1 LINC01699 ANKRD34C-AS1 CHKB-DT F11-AS1 LINC02389 LHX4-AS1 LIFR-AS1 ZIM2- AS1 FAM86B2-DT LINC02716 ZNF790-AS1 LRIG2-DT RUFY1-AS1 LOC100287036 ZFX-AS1 LINC01730 DGAT2-DT LINC02016 OVCH1-AS1 LINC01473 CACNA1C-AS1 IGSF11-AS1 ENTPD1-AS1 PTOV1-AS1 LINC02525 LINC02167 LINC01884 INTS6-AS1 LINC01254 EC12-DT IRS4 -AS1 HOXB-AS1 MFF-DT DDX59-AS1 C10ORF95-AS1 CFAP95-DT LINC02202 LINC02894 LINC01501 LINC01443 SPEN-AS1 LINC03016 LINC01656 PELP1-DT LINC02097 LINC01102 LARS2-AS1 LINC01635 LINC01968 LINC01793 LINC03001 LINC01350 MIF4GD-DT LINC01829 OPA1-AS1 LINC02606 TSPEAR-AS1 USP2-AS1 C1RL-AS1 MRPS30-DT FOSL2-AS1 ECE1-AS1 TMEM108-AS1 AQP5-AS1 LINC00869 LINC02421 BCAR3-AS1 PACRG-AS2 LINC01144 LINC01436 LINC01766 LINC00994 LOXL1-AS1 LINC01094

DEPDC1-AS1SCN1A-AS1 LINC02087 SLC7A11-AS1 PLS3-AS1 SIGLEC10-AS1 LINC01969 LINC01082 FBXW7-
 AS1 XIRP2-AS1 LINC01752 LINC01859 LINC01018 TRIM52-AS1 LINC02069 LINC01285 LINC02981 EZR-AS1
 LINC01881 JMJD1C-AS1 TPRG1-AS2 LINC01085 SPAG16-DT MAGI1-AS1 SMIM2-AS1 LINC01743 RBPMS-AS1
 LINC01271 HSPA2-AS1 LINC01648 TAPT1-AS1 LINC01940 GPR158-AS1 LINC01480 LINC01687 ZNF236-DT
 MYOSLID-AS1 LIMD1-AS1 ZNF793-AS1 NPAS2-AS1 AGBL1-AS1 LINC01618 TPT1-AS1 HAND2-AS1 LINC01020
 FSIP2-AS2 ITGB8-AS1 HEXA-AS1 THAP9-AS1 LINC01532 LINC02470 LINC01476 UCHL1-DT RPS6KA2-AS1
 VPS33B-DT SRGAP3-AS3 LINC-ROR LSAMP-AS1 LINC01187 GLCC11-DT HORMAD2-AS1 ZC3H12A-DT
 MORF4L2-AS1 LDDX11-AS3 MAP4KDT LINC DT LPP-AS2 PRKG1-AS1 CSNK1G2-AS1 LINC02492 SRP14-DT
 LINC01232 SLFN1-AS1 PTOV1-AS2 EPHA5-AS1 CPB2-AS1 RBMS3-AS3 ARHGEF3-AS1 TLE1-DT LINC01647
 LINC01377 TAT-AS1 LINC02408 NUP50-DTLINC02370 LINC01798 SLC24A3-AS1 APOBEC3B-AS1 KCNAB1-AS2
 LINC01787 KCNJ2-AS1 PRRT3-AS1 RNASEH1-DT SPATA13-AS1 LINC01948 TTC7B-AS1 ZFAT-AS1 KCND3-IT1
 SSTR5-AS1 LINC02308 CFAP100-DT LINC02297 LINC01227 LINC02076 OIP5-AS1 SOD2-OT1 ADAMTS9-AS2
 LINC01500 LINC02889 GNG12-AS1 LINC01962 LINC01341 GAS6-AS1 PTPRD-DT C1QTNF1-AS1 MBNL1-AS1
 LY86-AS1 LINC02613 CSTF3-DT SLC9A9-AS1 LINC01543 STPG2-AS1 LINC00244 SCOC-AS1 CCDC144NL-AS1
 LDLRAD4-AS1 LINC01723 TENM2-AS1 SLC20A1-DT CFAP44-AS1 LINC02143 LINC01923 LOC100130370
 LINC01204 MLF1-DT LINC02082 DLGAP1-AS3 HTR2A-AS1 MCM3AP-AS1 LINC00673 LINC01135 LINC02444
 CLSTN2-AS1 LINC01622 KCNIP1-OT1 LINC01281 CEP72-DT MAGI2-AS2 LINC00540 PCCA-AS1 LINC00539
 LINC01354 SLIT3-AS1 PROSER2-AS1 RBM15-AS1 THUMPD3-AS1 LOC388282 NUP133-DT SIPR1-DT ZNF674-
 AS1 LINC01001 RAPGEF4-AS1 CLYBL-AS2 RNASEH2B-AS1 LINC01014 DPY19L3-DT BAIAP2-DTLINC01847
 LINC01148 ATP6AP1-DT LINC02653 HEATR5A-DT LINC02116 LINC02212 DIP2A-IT1 FAM111A-DT CCDC183-
 AS1 AGPAT4-IT1 VWC2L-IT1 LINC01344 HIF1A-AS1 FAM238B LINC01644 TOLLIP-DT PLPPR5-AS1 PAX6-AS1
 LINC02587 LINC01801 STEAP2-AS1 LINC00397 LINC01512 LINC01210 LINC02078 LINC01674 LINC02114
 CLDN10-AS1 GRM8-AS1 BCDIN3D-AS1 PGR-AS1 LYPLAL1-DT LINC02982 XXYLTI-AS1 LINC01913 PSMA3-
 AS1 NCKAP5-AS2 PIK3IP1-DT MYCBP2-AS1 WDR11-DT EML2-AS1 KDM4A-AS88 CDM4A-AS1 SRGAPACT2-
 AS1 LINC01284 LINC015 AS1 LINC00552 SLIT1-AS1 ERI3-IT1 SYNJ2-IT1 LINC02106 ZNF566-AS1 DLGAP1-AS1
 PCNA-AS1 FGF10-AS1 SACS-AS1 LINC01257 LINC01484 LINC01963 LINC02226 ALOX12-AS1 LINC01882
 DIAPH3-ASCATIP-GLAS1-AS1 C LINC01416 TNKS2-DT ERC2-IT1 LINC01147 STX18-AS1 LINC03033
 LINC01106 ST7-AS2 AFAP1-AS1 SMARCA5-AS1 LINC02135 WDR35-DT ZNF341-AS1 ALKBH3-AS1 DOCK4-AS1
 JAKMIP1-DTTS22D1-AS1 LINC02418 MFSD4A-AS1 EPN2-AS1 LINC01624 ZNF516-DT LINC02171 LINC01749
 LINC01496 FAM13A-AS1 DLGAP4-AS1 PAN3-AS1 EIF3J-DT LINC00653 UBA6-DT UST-AS1 LINC00260
 LINC01127 LINC01209 FTO-IT1 LINC01117 LINC02532 LINC01792 BABAM2-AS1 OXCT1- AS1 LINC01424
 LINC01220 TRIM67-AS1 DAOA-AS1 DCST1-AS1 LINC01203 PRKCA-AS1 LINC02433 LINC02395 LGALS8-AS1
 TNFRSF14-AS1 USP27X-DT LINC01990 NHS-AS1 PCGF3-AS1 KCNQ5-AS1 LINC01019 LINC03017 FAM83C-
 AS1 SLC04A1-AS1 CSMD2-AS1 PHKA2- AS1 LINC02232 COL18A1-AS2 LINC01340 LINC01273 LINC01973
 N4BP2L2-IT2 LINC01372 LINC01653 PCDH9-AS3 LINC02145 ZNF594-DT LINC00294 CERS6-AS1 ATP11A-AS1
 MATN1-AS1 HM13-AS1 EPCAM-DT PSG8-AS1 ITPKB-IT1 TMEM30A-DT SLC26A5-AS1 ODC1- DT ZNF30-AS1
 CDKN2B-AS1 SNRK-AS1 IFNG-AS1 LINC01686 ING2-DT SNAP25-AS1 LINC02402 NUP107-DT DPYD-AS1
 CDK6-AS1 ENO1-AS1 LINC01954 LINC02159 SYP-AS1 LINC01216 LINC01116LINC02593 MACROD2-IT1
 SEPTIN4-AS1 CADM3-AS1 NUDT16-DT LINC01917 KTN1-AS1 LINC01356 TMEM72-AS1 HOXC-AS1 LINC01366
 OSER1-DT LINC02292 LINC02880 LINC02120 LRP4-AS1 MCHR2-AS1 SH3RF3-AS1 LINC01349 LINC01108
 EIF1AX-AS1 CCDC13-AS1 EPM2A- DT DPYD-AS2 NPPA-AS1 STEAP1B-AS1 PDXP-DT TENM3-AS1 PACRG-AS1
 LINC01214 LINC00550 LINC01095 MAGOH-DT STPG3-AS1 LINC02199 LINC01229 HHIP-AS1 OR2W1-AS1
 LINC01535 SPATA3-AS1 SLCAS1 SLCAS1-AS2 ARNTL2-AS1 JRKL-AS1 PGM5-AS1 HS6ST2-AS1 LINC01797
 VPS9D1-AS1 NAGPA-AS1 DTD1-AS1 LINC01343 LINC01361 LINC02227 TAF1A-AS1 LINC01266 LINC01761
 RAD51-AS1 DLGAP1-AS5 PRC1-AS1 LINC01530 VWA8-AS1 LINC01430 LINC01729 STXBP5-AS1 ZEB1-AS1
 MIOS-DT HCFC1-AS1 LINC01470 LINC01160 LINC03027 MRTFA-AS1 LINC01142 TMEM220-AS1 MLIP-IT1
 DIO2-AS1 NKX2-1-AS1 SUCLG2-DT LINC01015 ADGRL3-AS1 ROR1-AS1 PBX1-AS1 LINC01819 HID1-AS1
 LINGO1-AS1 LINC01819 HID1-AS1LINC01924 LINC03012 PDGFA-DT NCK1-DT GTSE1-DT VSTM2B-DT
 LINC01706 OB11-AS1 LAMTOR5-AS1 TMEM147-AS1 DLG1-AS1 DDX19A-DT LINC01734 LINC01864 NFIA-AS2
 NDFIP2-AS1 NDUFV2-AS1 ZNF32-AS1 LNX1-AS2-AS1 LNX1-AS2 LNX1-AS1 CFAP58-DT LINC01750 LINC02075
 SEMA5A-AS1 LINC01191 GTF2I-AS1 ZBTB11-AS1 LINC02150 SLIT2-IT1 LINC01007 RGPD4-AS1 LINC01132
 GABPB1-IT1 LINC02998 FUT8-AS1 LINC01522 CSE1L-DT LINC02891 MIDEAS-AS1 CFAP418-AS1 MTOR-AS1
 NEXN-AS1 BRWD1- AS2 NRG1-IT3 KRTAP5-AS1 CAPN10-DT LINC02800 ANXA2R-AS1 B3GAT1-DT ASMTL-AS1
 CYMP-AS1 LINC01303 PRICKLE2-AS3 FEZF1-AS1 DNAH8-AS1 FOXD2-AS1 PLCE1-AS1 EML4-AS1 LINC02104
 UCK01123 LINC01123 LINC01506 ISL1-DT AS1 SOX9-AS1 SP2-AS1 LOC100134391 LINC02583 LINC01235
 CPEB1-AS1 ZBTB20-AS1 RAET1E-AS1 HECTD2-AS1 KIRREL3-AS3 ZFAND2A-DT HLA-F-AS1 LHFPL3-AS1
 FGF13-AS1 LINC01280 LINC01623 LINC01812 DSG1-AS1 LINC02091 LINC01531 ZNF567-DT
 LINC01720LINC01277 SORCS3-AS1 GATD1-DT NNT-AS1 IQCF5-AS1 LINC01312 SAP30L-AS1 MKNK1-AS1
 GAS6-DT OR4M2-OT1 LINC01100 AGBL4-IT1 PRICKLE2-AS1 UPK1A-AS1 LINC01625 LINC01310 LINC01060
 ELOVL2-AS1 TMEM51-AS1 ZNF529-ASL2-AS1 TMEM51-AS7 -DT SPACA6-AS1 LINC01128 ST3GAL6-AS1
 LINC01741 LINC03014 LRRC3-DT RPS6KA2-IT1 CD27-AS1 APCDD1L-DT PHACTR2-AS1 LINC02992 WWTRI-
 AS1 LINC01777 LINC01120 THAP7-AS1 ZNF32-AS2 LINC01933 LINC01305 YTHDF3-DT TNFRSF10A-DT
 LINC01877 SMIM10L2B-AS1 LINC01141 PPP4R1-AS1 LINC01146 LINC00513 CACNA2D1-AS1 MYOCD-AS1
 MZF1-AS1 LINC01087 DIAPH3-AS2 ARHGAP44-AS1 LINC01722 RETREG1-AS1 LINC02203 MED4-AS1
 LINC01485 LINC01524 LINC01189 LINC01869 LINC01533 LAMP5-AS1 LINC01756 GRID1-AS1 AADA2L2-AS1
 CCDC18-AS1 PDCD6- DT LINC01428 FGF14-IT1 LINC01080 LRRC8C-DT TNS2-AS1 LINC00602 PRMT5-DT
 LINC01355 HPN-AS1 LINC02111 LINC02291 GARS1-DT STK4-DT LINC00538 TSPOAP1-AS1LINC01230

LINC01563 LINC01538 ZNF451-AS1 NAV2-AS5 GMDS-DT LINC01363 MYO3B-AS1 HNF4A-AS1 LINC02042 LINC02881 LINC02328 LINC01927 LINC01107 LINC01989 LINC01096 LINC02774 LINC01215 ACTR3-AS1 GRM5-AS1 LINC02149 CPVL-AS2 DLEU7-AS1 LINC01726 PCBP2-OT1 EPN2-IT1 PRKX- AS1 HECW2-AS1 HLTf-AS1 ITPK1-AS1 LAMA5-AS1 MAGEA8-AS1 LINC01733 PEG3-AS1 LOC93429 CPEB2-DT SRD5A3-AS1 PRR34-AS1 LINC00926 CIRBP-AS1 COL18A1-AS1 H2AZ1-DT MAMDC2-AS1 WDFY3-AS2 GNAO1-DT SOX21 -AS1 HIPK1-AS1 LINC01002 LINC02153 EP300-AS1 LIPE-AS1 WWC2-AS2 KCNC4-DT AQP4-AS1 LINC01821 NGFR-AS1 ZNF84-DT BOK-AS1 LINC02731 LINC02878 NIPBL-DT NAL1B-AS1 PTEAR-AS1 LINC01208 VLDLR-AS1K MACROD2-AS1 ST3GAL5-AS1 TEX26-AS1 COL4A2-AS1 CTBP1-DT LINC01718 KANSLIL-AS1 LINC02749 CARD8-AS1 LINC03009 SMC5-DT SNAI3-AS1 LINC01003 MAP3K20-AS1 NOL4L-DT LINC01505 LINC01029 HOXC-AS21 ZINC02289 ZINC02289-ZINC02289 ZINCPKN2-AS1 LINC01133 RNF157-AS1 BCL10-AS1 THOC7-AS1 LINC01099 LINC01352 ADGRL1-AS1 LINC01637 LINC01541 SGO1-AS1 LINC01721 NUCB1-AS1 RUNX1-IT1 LINC02085 LINC01347 LINC00367 RANBP3-DT RPL26L1-AS1 LINC01845 SPAG5-AS1 LINC03013 NALF1-IT1 ACTN1-DT GNA15-DT C5ORF64-AS1 CLRN1-AS1 LINC01634 LINC02139 IL12A-AS1 LINC02192 ERICH2-DT BRINP3-DT ZNF667-AS1 NHSL1-AS1 EGFLAM-AS4 LINC02882 TMEM44-AS1 ADAMTS16-DT NOP14-AS1 NUTM2A-AS1 LINC0105 DNMBP-AS1 MIA2-AS1 RAP2C-AS1 PRR7-AS1 LINC01069 EFCAB6-AS1 NDUFA6-DT ZNF295-AS1 TRAM2-AS1 RGS5-AS1 CACNA1G-AS1 LINC01010 CPS1-IT1 GPC6-AS2 TMCC1-DT LINC00628 FOXNF6-AS2 SPATA8-AS1 LINC02245 -AS1 REL-DT TTC21B-AS1 IPO9-AS1 GATA6-AS1 LINC02112 LINC01433 RUSC1-AS1 GPC6-AS1 LINC01672 LINC01939 ARMC2-AS1 LINC02067 FRMD6-AS2 ANKRD44-IT1 CBR3-AS1 FLG-AS1 LINC00417 LINC00933-DLGAP2-AS1 ZRANB2-DT LHFPL3-4 DLGAP2-AS1 ZRANB2-DT AS2LINC01482 LINC01426 ADPGK-AS1 LINC01987 LINC02582 HLX-AS1 CBRI-AS1 INKA2-AS1 SEPSECS-AS1 LINC02092 TTN-AS1 DYNLL2-DT NECTIN3-AS1 SLC2A1-DT SMG7-AS1 LINC01265 NCAMI-AS1 OSGEPL1-AS1 LINC01164 -AS1 SYNPR-AS1 ITGB2-AS1 LINC00506 PABPC1L2B-AS1 SLC26A4-AS1 ZRANB2-AS1 HAO2-IT1 OVOL1-AS1 PPP1R26-AS1 PCED1B-AS1 TRHDE-AS1 LINC00581 ALDH1L1-AS2 BHLHE22-AS1 RNF139-DT SERTAD4-AS1 LANCL1-AS1 LINC01238 BZWI-AS1 BMP7-AS1 LINC01568 VASH1-AS1 BHLHE40-AS1 LINC01375 LINC00895 RASSF1-AS1 HI-10-AS1 SLC25A5-AS1 LINC01124 LINC02324 NPHP3-AS1 LINC01630 PRKAR2A-AS1 SNCA-AS1 ADIPOQ-AS1 LINC02610 MYRF-AS1 LINC00891 LINC01004 HOXB- AS3 ELOA-AS1 DLG3-AS1 LINC02315 LINC01539

HNSCC 157

LINC00683 LINC00693 LINC00705 C21ORF62-AS1 LINC02869 LINC00533 LINC00440 LINC01560 LINC00690 LINC00837 LINC00345 ERCC6L2-AS1 LINC00564 LINC00557 LINC00943 FAM225B LINC00524 LINC00475 LINC00601 LINC00517 LINC00113 LINC00459 LINC00352 LINC00240 LINC00901 LINC01619 LINC00555 LINC00709 LINC02691 ATP2B1-AS1 LINC00507 LINC00387 LINC00567 FAM230C LINC00391 FAM138F LINC00621 FAM85B LINC00161 LINC00402 LINC00504 LICAM-AS1 LINC00604 FAM215B LINC01554 NDUFV1-DT LINC00032 LINC02871 LINC00595 LINC00454 LINC00566 LINC00334 LINC00415 FAM225A FAM138B LINC00427 LINC00365 LINC00903 LINC00485 GDF5-AS1 LINC00243 LINC00910 RPP38-DT LINC02692 LINC00944 LINC00945 LINC00587 LINC00562 LINC00680 LINC00508 LINC00364 LINC00317 LINC00498 LINC00472 LINC00404 LINC00392 LINC01548 LINC00560 LINC00614 LINC00445 LINC00355 FAM201A LINC00434 LINC00492 LINC00543 LINC00484 LIF-AS2LINC00596 LINC00448 LINC00708 LINC00515 LINC00701 LINC00958 LINC00649 LINC02603 LINC02872 FAM27D1 LINC00350 LINC00963 FAM215A LINC00686 LINC00857 LINC00529 FAM230A LINC00314 LINC00692 LINC00092 LINC01101 LINC00677 LINC00393 LINC00700 LINC00400 LINC00561 LINC00411 LINC00354 LINC00158 FAM157C LINC00500 LINC00615 LINC00106 LINC00237 LINC02656 LINC00703 LINC00519 LINC01559 LINC00951 LINC00620 LINC01711 LINC00302 LINC00856 LINC00710 LINC00200 LINC00474 FAM238A LINC00388 LINC00461 LINC00491 LINC00342 LINC00449 LINC00556 LINC00707 LINC00301 LINC00349 LINC00972 LINC00671 LINC00362 EPB41L4A-DT LINC00283 LINC00849 LINC02899 LINC00702 LINC00315 FAM74A6 LINC0062AS LINC00871 LINC01LINC00692 LINC00092 LINC01101 LINC00677 LINC00393 LINC00700 LINC00400 LINC00561 LINC00411 LINC00354 LINC00158 FAM157C LINC00500 LINC00615 LINC00106 LINC00237 LINC02656 LINC00703 LINC00519 LINC01559 LINC00951 LINC00620 LINC01711 LINC00302 LINC00856 LINC00710 LINC00200 LINC00474 FAM238A LINC00388 LINC00461 LINC00491 LINC00342 LINC00449 LINC00556 LINC00707 LINC00301 LINC00349 LINC00972 LINC00671 LINC00362 EPB41L4A-DT LINC00283 LINC00849 LINC02899 LINC00702 LINC00315 FAM74A6 LINC00691 LINC00871 LINC00973 HSDL2-AS1

PeCa 226

ANO1-AS2 YTHDF3-AS1 TTTY7B BOLA3-AS1 LOC101927269 LOC101927769 LOC105375115 TTTY1B LOC401324 LOC101928222 MAFA-AS1 IPW LOC101927668 LOC100506098 LOC100505555 TTTY20 PKIA-AS1 RNF139-AS1 NR1R FAM197Y2P LINC01609 LOC101927661 LOC105375773 FLJ33534 PWRN3 LOC286177 SLMO2-ATP5E TTTY7 LOC100240728 FLJ46284 GACAT3 LINC01460 HOMER3-AS1 LINC01445 LOC101927513 LINC01324 LINC01607 LOC400940 CASC19 ELDR LOC101927588 LOC101928371 TTTY23B LOC101929653 LINC01291 C11orf44 LOC221946 FLJ42969 HCG2040054 LINC01185 TTTY18 DCTN1-AS1 LOC101927948 LOC375196 ZFPM2-AS1 LOC101927798 MAGI2AS3 LINC00824 LOC101929488 LOC105375787 PWRN4 TTTY2 EVX1-AS LOC101929551 LINC01162 LOC101928160 LOC102724874 CASC21 PCAT2 LOC101927066 LOC283683 LOC100996583 ISPD-AS1 LOC100130298 LINC01608 LOC101927310 FLJ26245 C8orf31 LOC102724612 LOC101928168 ZNF426-DT LOC101928087 LOC101927079LOC101927543 LOC105372273 TTTY21 HOXA-AS2 LOC283177 LINC01317 LOC442497 LOC101927141 LOC104054148 LOC283585 LOC284950 LOC101927932 LINC01381 ZNF433-AS1 BREA2 LINC01143 RRS1-AS1 ILF3-AS1 LOC101927040 C8orf87 ATP6V1B1-AS1 LOC101929341 LOC101927845 LINC01320 LOC101926908 LOC100288181 LOC730338 MINCR LOC101928618 LOC101929217 TTTY21B LOC401312 ELFN1-AS1 TSL LINC01419 PCBP1-AS1 C2orf91 C7orf69 TTTY12 TTTY1 ALMS1-IT1 LINC01318 MYCNUT LOC100132813 AZIN1-AS1 LOC101927354 LOC100506474 LOC101929563 LINC02237 CCAT2 HRAT92 LINC00535 MEIS1-AS2 LOC101927657 LOC100505736 RNASEH1-

ASI KCCAT333 LOC100133985 LOC102723672 HOXA10-AS BRE-ASI KLHL7-ASI LOC101928401 LINC00278 LOC646762 TTTY2B C7orf65 HOXA10-HOXA9 LINC01322A TMEM75 LINC00982 LOC101927378 LOC101928048 MEOX2-ASI LOC101926892 LOC100507464 LOC101927188 LOC100128317 SEPT5-GP1BB LOC102724710 TTTY22LOC101928902 LOC101929528 TGFA-IT1 RDH10-ASI LOC100506497 TTTY16 SEPT7-ASI CA3-ASI HOXA11-AS LOC105375166 LINC02265 UBR5-ASI LINC01602 LOC100506178 LOC729296 LINC01582 LINC01151 DGUOK-ASI TTTY8B LOC441204 LOC100507642 LINC00280 LINC01105 LOC100506274 TTTY8 LOC100505938 NCRNA00250 LOC730100 TTTY23 FAM197Y5P LOC102724804 C7orf71 TTTY11 DKFZp434L192 LOC100129434 FLJ31356 BIRC6-AS2 LOC100128494 LBX2-ASI LINC00152 RNF144A-ASI LOC100133669 NTM-ASI INO80B-WBP1 GABRG3-ASI LOC100505716 LOC101929452 LOC101927967 LOC100506725 LOC100132215 LOC100507006 UCHL1-ASI HPVC1 C8orf37-ASI C8orf34-ASI TTTY19 C20orf197 LOC101927822 CASCI1 LOC101929268 LOC105375843 LOC101927915

Os genes de lncRNAs exclusivos de câncer de pênis estão listados na **Tabela 5**.

Carcinoma de células escamosas de cérvix (CESC, sigla em inglês). Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (HNSCC, sigla em inglês). Câncer de pênis (PeCa, sigla em inglês).

Tabela Suplementar 2. Genes regulados pelos miRNAs que interagem com KIAA0125 e LINC00221.

lncRNA	miRNAs	Genes	Nº de Genes
KIAA0125	hsa-miR-9-3p	C5orf51; DDHD2; FAM63B; BNIP3L; CDK6; RSF1; TNKS2; WWTR1; NUFIP2; ICMT; THUMP3; HIAT1; ZNF148; TSC22D4; C5orf24; LRP6; DCUN1D1; HOMER2; GABPB1; FSD1L; TRIM2; XRN1; BBX; PARD6B; TDG; SPOPL; TIAM1; PHF6; STC1; KIAA1958; MSANTD4; PTEN; LCOR; ITPRIPL2; CUX1.	35
	hsa-miR-10a-5p	RORA; ARSK; CRLF3; ZNF367; GATA6; JARID2; RB1CC1; E2F3; HOXB3; SOBP; RC3H2; CBX5; TRIM2; CNOT6; BBX; RAP2A; NR6A1; TIAM1; KPNA5; TFAP2C; MAP3K7; FNBP1L; KLF11	23
	hsa-miR-28-5p	FOXJ3; IQGAP1; TMEM167B; KAT6A	04
	hsa-miR-30a-5p	SNAIL; MLK4; KLF10; BRWD1; JOSD1; DDIT4; ANKRA2; ZBTB18; DHX36; PFN2; LRRC8D; PLAGL2; SOCS1; ERLIN1; TBPL1; YOD1; AVL9; ARID5B; SMARCD2; ZBTB39; SEC23A; CUL2; CHD9; GASTO; TAOK1; AFF4; UBN1; EDEM3; CAPZA1; CD2AP; PDE7A; NUCKS1; CPE; FAM160B1; TBC1D10B; MIB1; ZFAND5; SYPL1; LRP6; DPYSL2; GLCC11; TULP4; SKIL; CAMK2D; ZNF711; SNX18; TMEM181; TM4SF1; GOLGA1; AZIN1; 6 DE MARÇO; SLC35C1; MZT1; SCML1; ELL; JDP2; EPG5; WDR26; C7orf60; SLC6A9; PPARGC1B; IRS2RBM12; LIFR; SYNGR3; EML4; CCNE2; VKORC1L1; STK39; UBE3C; SAMD4A; RTN4R; RORA; SH2B3; FACTR2; INO80D; GALNT3; LRCH2; USP15; CEP350; RBM26; CBX8; PTPN13; BRWD3; REEP3; KIAA0355; ZDHHC21; TBLIXR1; MEX3B; SOCS3; FAM43A; DCUN1D3; DDI2; CCDC71L; S100PBP; ELL2; IFNAR2; C1orf174; GNA13; PPP1R18; PIP4K2A; RASA2; NDEL1; AVEN; ZBTB6; CD99; PHP2; NRXN3; VIM; IKZF2; R3HDM1; ZBTB11; SEMA3A; RAB7A; TNRC6C; STK17B; CCNT2; SEC22C; TUSC3; BNIP3L; TFPI2; CDC37L1; ELAVL2; AKAP10; RAPGEF2; PPARGC1A; CSNK1A1; BIRC6; ORC2; RAB32; KLF9; RAP2C; RAB38; ATXN1; BCL11B; UBAC1; GFPT2; UBE2D2; RELÓGIO; PLXNC1; SLC41A2; IRF4; DNAJC13; FAM13A; ZSCAN29; RNF157; CCDC97; STRIP1; SNAPIN; GALNT2; SETD7; NR6A1; LIN7C; ADRA2A; TMEM56; TMEM87B; C9orf41; MAML1; NEUROD1; STT3B; ZNF148; C4orf3; CDK12; SNTB2; UBE2V2; RARG; MLXIP; PAWR; FAM133A; EDC3; PLAG1; FIGN; PCGF3; ZNRF1; NCR3LG1; LCOR; TLE1; LRRC8B; MYO5A; SLC5A3; ZNF521; HNRNPUL2; IDH1; MAT2A; P4HA2; RAB21; GATO; AP2A1; PPP1R12A; LIMCH1; PGM1; ITGA6; DOCA7; STX16; NT5E; MTDH; MBNL1 AP3S1; ELMOD2.	199
hsa-miR-30c-5p	SNAIL; CCDC117; USP37; B3GNT5; BRWD1; ZBTB18; TAOK1; RHOB; ANKRA2; DHX36; ERLIN1; RORA; JOSD1; SEC23A; CHD9; CPSF6; ZFAND5; DDIT4; PFN2; TMEM181; WDR82; CAPZA1; LRRC8D; AFF4; PPP3R1; EDEM3; GASTO; DPY19L1; NUFIP2; ZNF711; PAFAH1B2; YOD1; PTP4A1; AVL9; ARID5B; CUL2; SMARCD2; CAMK2D; SYPL1; IRS2; TBPL1; PLAGL2; AZIN1; KLF9; VKORC1L1; CD2AP; PDE7A; CD99; SYNGR3; UBE2D2; ZDHHC21; HIPK2; RAD23B; LIN7C; UBE2V2; MIB1; UBN1; ZBTB39; CPE; FAM160B1; TM4SF1; R3HDM1; CCNT2; CEP85L; CPNE8; STRIP1; STT3B; TPM4; TLE1; MYO5A; TBC1D10B; LRP6; GLCC11; SEC24A; PTGFRN; GALNT1; EPG5; WDR26; REEP3; SNX18; DPYSL2; FIGN; RBM12; MTDH; TMEM56; GOLGA1; MZT1; ELOVL5; NUCKS1; ELL; INO80D; GALNT3; USP15; HABILIDADE; JDP2; C7orf60; KIAA0355; SLC6A9; DDI2; MANIA2; STK39; CCDC71L; BNIP3L; GPCPD1; SETD7; 6 DE MARÇO;	225	

	<p>PPARGC1B; LRRC8C; SLC35C1; ZBTB6; LIFR; PHP2; UBE3C; SAMD4A; RAI14; RTN4R; SCML1; ZBTB11; DGLAP4; CDC37L1; GALNT7; SH2B3; FACTR2; CSNK1A1; LRCH2; DNAJC13; RBM26; MLK4; ABCA12; RQCD1; PIP4K2A; C9orf41; PTPN13; C4orf3; BRWD3; CCNE2; PAWR; TBL1XR1; EDC3; MEX3B; FAM43A; PCGF3; DCUNID3; CBF3; S100PBP; IFNAR2; LCLAT1; C1orf174; PGM3; NRXN3; VIM; IKZF2; REEP1; SEMA3A; KLHL20; TNRC6C; STK17B; ALG9; SEC22C; STAG2; TMEM87A; DMXL2; TRPS1; TUSC3; TFPI2; ELAVL2; FBXL20; AKAP10; RAPGEF2; PPARGC1A; NAA25; ACAP2; BIRC6; ORC2; RAB32; ELL2; GNA13; DESI2; RAP2C; RAB38; FAM210B; ATXN1; BCL11B; UBAC1; GFPT2; CEP350; PLXNC1; SLC41A2; IRF4; ACTR1A; FAM13A; ZSCAN29; RNF157; SNAPIN; GALNT2; EML4; PPP1R18; NR6A1; ADRA2A; SLC7A11; MFSD6; TMEM87B; KLF10; RASA2; MAML1; CAMK2N1; NEUROD1; ZNF148; NDEL1; CDK12; AVEN; OVOL1; RARG; MLXIP; PVRL3; FAM133A; PLAG1; ZNRF1; NCR3LG1; SBK1; LCOR; LRRC8B; ZNF521; TRIQK; HNRNPUL2.</p>	
	<p>CEP350; RC3H2; ITGA8; GNPAT1; EPAS1; SUV420H1; NAA25; LPGAT1; GELO2; SBNO1; SMG1; PTEN.</p>	12
	<p>ZIC3; TSHZ3; FBXO11; IL6R; DHX40; MEF2A; HBP1; IGF; WHSC1L1; DCUNID2; GATM; TOMM20; BACH1; FBXO33; SP1; CBF3; ZNF260; TCF4; DPY19L1; AICDA; VTI1A; AP1S2; TRPS1; ZBTB38; JARID2; RC3H2; MBNL3; TCF12; TADA2B; RNF19A; FGF9; CSRNP2; SLA; C11orf30; UM MORCEGO; STRN3; CARTÃO 11; TPRKB; RAB11FIP2; SACO5; IRF2BP2; ANTXR1; RBAK; LPGAT1; ERBB2IP; PNPT1; TRIM32; VPS36; LRP1B; ZNF561; HNRNPA3.</p>	51
	<p>PTEN; PSAP; JARID2; SMARCD2; NABP1; SECISBP2L; IRF1; LDLR; MIER1; PPP6R1; NPTN; RPA2; C16orf70; TBL1XR1; ANKIB1; ZNF800; ULK2; CONHECEU; CNOT6; BTBD3; EOGT; FAM175B; CBF3; HIPK3; C7orf60; PRKAA1; OTUD3; MAP3K9; RC3H2; PTPN4; TSHZ1; ZNF614; CCT6A; ago.1; CCDC6; ACVR1; STEAP4; ZCCHC14; B4GALT5; CCDC126; C5orf30; RNF41; ZNF250; TCF4; HBP1; HRK; WASL; ZNF711; GASTO; NUP133; MLLT10; ZAK; MTMR9; HECA; CPEB4; PRKD3; ATXN1; EFN2; SBF2; DYNC1L2; EIF4E2; RTCAFRMD6; GAREM; SPOPL; WHSC1L1; SYBU; UBC; CDK19; INHBB; TGFB2; CDS1; PGM2L1; TSC1; FSTL5; MECP2; SIPR1; DSEL; PURG; DCP2; VCP1P1; SKIDA1; ZDHHC23; SLC24A3; MYBL1; MDM4; FICD.</p>	87
	<p>NFIC; LASP1; CALMA3; SLC6A9; NACCI; TSPAN3; PNKD; ZDHHC6; GSS; PDAP1; RGP1; VGF; KDM6B; CELSR2; KLHL3; TMEM41A.</p>	16
	<p>WEE1; CCNE1; CCND2; ASH1L; CACUL1; PRDM4; PLAG1; PAPP; SMAD7; LURAP1L; MTMR3; ELL2; PARD6B; UBE4B; FGF2; SLC20A2; SLC35G1; ZBTB34; IPO7.</p>	19
	<p>SMC1A; MYCN; HAND1; ERO1L; SKIL; YOD1; IGF2BP1; SEMA4C; FIGN; ARID3A; HOMER2; IGF1R; CCDC71L; GATM; IGDC3; ERCC6; MAPK6; PXT1; ONECUT2; PGRMC1; RAB3GAP2; NAA30; NR6A1; DPH3; RANBP2; GXYLT1; ADAMTS5; BCAP29; USP12; RBMS1; TNFSF9; MDM4; RDX; PCGF3; PRTG; EDN1; EDEM3; PPP1R15B; CDV3; TGFB1; XRN1; SENP5; INFERNOS; AEN; RBF2; MLLT10; SNAP23; GPCPD1; C9orf40; ZNF710; UTRN; MED8; B3GNT1; FGD6; HSPA14; LRIG2; MARTE2; EPHA4; LPGAT1; ZNF689; PDE12WASL; ARID3B; TRIM71; SYT7; MAP4K3; PLEKHO1; XK; IGF2BP2; GPC4; ARHGAP28; C20orf194; MAP3K1; CDC34; FAM118A; FZD3; TTC26; CCNJ; PALD1; PRKAR2A; ETV3; ATPAF1; HDHD1; PRPF38B; ago.4; TLL4; CTDSPL2; GALNT1; WNT9A; DOK3; ADAMTS12; SLC25A27; IL6R; CD200R1; COL1A2; COL3A1; ADRB2; OLR1; C14orf28; PAPP; KLHDC8B; SESTD1; NHLRC3; LCOR.</p>	104
LINC00221	<p>DYRK2; IGF2BP1; YOD1; IGF1R; SMARCC1; NR6A1; GXYLT1; C5orf51; NAA30; LRIG2; EPHA4; PDE12; ARID3B; CD200R1; NHLRC3; SKIL; SEMA4C; FIGN; ARID3A; IRS2; PPP1R15B; PXT1; CCDC71L; IGDC3; ERCC6; PGRMC1; GATM; DPH3; ONECUT2; MAPK6; MARS2; RBMS1; LPGAT1; RANBP2; RDX; PCGF3; BCAP29; TNFSF9; HAND1; CDV3; CERCAM; MDM4; NRAS; TGFB1; PRTG; EDN1; B3GNT1; CTPS2; SCD; MED28; SENP5; HELLS; DCAF15; PBX1; ARHGAP28; SNAP23; MAP3K1; CCNJ; C9orf40; TLL4; ZNF710; UTRN16R; FGD6; HSPA14; ZNF689; WASL; COIL; TRIM71; SYT7; MAP4K3; XK; IGF2BP2; DLGAP4; C20orf194; CDC34; FZD3; TTC26; PALD1; XRN1; PRKAR2A; ETV3; ATPAF1; ACVR1C; SLC35D2; PRPF38B; MYCN; ago.4; CTDSPL2; GALNT1; WNT9A; ADAMTS12; USP12; MED8; LIPH; COL1A2; HDX; NDST2; COL3A1; ANKRD49; ADRB2; ZBTB26; TMEM167A; C14orf28; PAPP; KLHDC8B; SESTD1; LCOR; GDAP2; SMIM3.</p>	110
	<p>IGF2BP1; YOD1; IGF1R; SMARCC1; NR6A1; GXYLT1; C5orf51; MLLT10; NAA30; LRIG2; EPHA4; PDE12; ARID3B; SKIL; SEMA4C; FIGN; ARID3A; IRS2; MAPK6; PPP1R15B; PXT1; CCDC71L; IGDC3; ERCC6; INSR; DPH3; ONECUT2; LPGAT1; MARS2; RBMS1; RANBP2; RDX; PCGF3; TNFSF9; HAND1; CDV3; CERCAM; MDM4; NRAS; TGFB1; PRTG; EDN1; CTPS2; SCD; MED28; SENP5; DCAF15; PCTP; B3GNT1; PBX1;</p>	109

	ARHGAP28; SNAP23; MAP3K1; CCNJ; C9orf40; TLLA; ZNF710; UTRN; IL6R; FGD6; HSPA14; COL15A1; ZNF689; COIL; TRIM71; SYT7; MAP4K3; XK; IGF2BP2; DLGAP4; C20orf194; CDC34; FZD3; TTC26; PALD1; CPD; PRKAR2A; ETV3; ATPAF1; ACVR1C; SLC35D2; PRPF38B; MYCN; ago.4; CTDSPL2; GALNT1; GAREM; WNT9A; ADAMTS12; USP12; MED8; CD200R1; LIPH; COL1A2; HDX; NDST2; COL3A1; ANKRD49; ADRB2; BRD3; ZBTB26; C3orf38; C14orf28; PAPP; KLHDC8B; SESTD1; NHLRC3; LCOR; SMIM3.		
hsa-miR-98-5p	SKIL; CBX5; SEMA4C; FIGN; KMT2D; IGF2BP1; IGF1R; LIN28B; ERCC6; MAPK6; HOMER2; PXT1; CCDC71L; GATM; MARS2; GXYLT1; IGDC3; RBMS1; DPH3; IGDC4; RANBP2; LPGAT1; HAND1; CDV3; PCGF3; EDN1; PPP1R15B; CTPS2; SCD; MED28; SENP5; DCAF15; RDX; NR6A1; CERCAM; B3GNT1; MDM4; PBX1; MAP3K1; ONECUT2; C9orf40; ZNF710; RBFOX2; ARID3B; SYT7; MAP4K3; DLGAP4; ARHGAP28; C20orf194; TTC26; XRN1; PRKAR2A; ETV3; ACVR1C; PRPF38B; ago.4; CTDSPL2; GALNT1; ADAMTS12; USP12; CD200R1LIPH; COL1A2; HDX; PRTG; NDST2; COL3A1; ANKRD49; CLCN5; ZBTB26; C14orf28; PAPP; KLHDC8B; HSPA14; LRIG2; SMIM3; XK; FZD3; DICER1; PPARGC1A; FRMD4B; MRS2; OSMR; C11orf57; MED8; CCNF; SENP2; GDAP2.	88	
hsa-miR-148a-3p	ITGA5; CCKBR; CDKN1B; CAND1; PPP6R1; BTBD3; SBF2; DCP2; TBL1XR1; NPTX1; TMED7; NPTN; MAP3K9; LIPA; YWHAB; KIAA0226; SESTD1; RNF219; RC3H2; MLLT10; TANC1; CANX; EOGT; PHAX; CUL5; MAF1; B4GALT5; PPP1CB; CCT6A; ROCK1; MNT; CCDC6; SOS1; TRAK2; FAM178A; ARL8B; NUPL1; LYSMD2; TOMM70A; ADAMTS5; BRPF1; OTUD4; CDK5R1; C5orf30; C7orf60; ALCAM; SIK1; SIPR1; VMP1; ATP11A; KLF5; ARRDC3; PCCB; EPAS1; SRSF11; LGALS8; BHLHE41; ATXN1; ADAM10; OSBPL1; CDK19; DEDDINHBB; HIF1AN; ZNF274; GPR137C; POU3F2; ZNRF1; ZDHHC17; MIER1.	70	
hsa-miR-148b-3p	ITGA5; ROCK1; LNPEP; NPTN; NPTX1; CDKN1B; CANX; TBL1XR1; MTMR9; CCDC6; YWHAB; SRSF11; TMED7; KIAA0226; HNRNPA2B1; CLCN6; PPP6R1; LIPA; SBF2; TMEM9B; ADAM10; TRAK2; SESTD1; CNOT6; B4GALT5; MAP3K9; MNT; MLLT10; CAND1; TANC1; FAM178A; EOGT; OTUD4; PHAX; PTPRD; CTSA; CCT6A; C5orf30; JARID2; RC3H2; UBE2W; LYSMD2; ADAMTS5; CDK5R1; MAF1; RSN1L; C7orf60; ZDHHC17; ZDHHC7; VMP1; MYO9A; ATP11A; KLF5; ARRDC3; PCCB; SOS1; ATXN1; DOCK6; NUPL1; CDK19; BRPF1; DEDDINHBB; ALCAM; SIPR1; ZNF274; GPR137C; POU3F2; PPP1R10; LRP4; ATP6AP2; USP48; ago.1; UGT8; AP4E1; DLG2.	76	
hsa-miR-152-3p	CDKN1B; NPTX1; NPTN; LIPA; BTBD3; TBL1XR1; NRARP; KIAA0226; PPP6R1; LDLR; SBF2; TMED7; ARL6IP1; PRNP; MAP3K9; MNT; MLLT10; CAND1; KLF4; ADAMTS5; ITGA5; EOGT; OTUD4; CUL5; YWHAB; RNF219; B4GALT5; JARID2; RC3H2; CTSA; MYO9A; ROCK1; ATP11A; CNOT6; ARRDC3; TRAK2; LGALS8; FAM178A; HNRNPA2B1; ATXN1; CANX; PRKAA1; PTPRA; ADAM10; NUPL1; ZDHHC7; CDK19; PHAX; ZNF804A; SIPR1; DCP2; TMEM9B; CDK5R1; ZDHHC17; SESTD1; RSN1L.	56	
hsa-miR-4677-3p	-	0	
LINC00226	hsa-miR-383-5p	-	0