

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS BOTUCATU

Análise dos lncRNAs como Biomarcadores Moleculares de
Glioblastoma no Contexto de Biópsia Líquida

Ana Clara Gemignani

Orientadora: Adriana Camargo Ferrasi

Coorientador: Driéle Bretones dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biotecnologia,
Campus de Botucatu, UNESP, para
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biomédicas

BOTUCATU - SP

2025

G322a Gemignani, Ana Clara

Análise dos lncRNAs como Biomarcadores Moleculares de Glioblastoma no Contexto de Biópsia Líquida / Ana Clara Gemignani. -- Botucatu, 2025 37 p.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biomédicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientadora: Adriana Camargo Ferrasi

Coorientadora: Driéle Bretones dos Santos

1. Câncer Prognóstico. 2. Diagnóstico Molecular. 3. Marcadores Bioquímicos. I. Título.

ANA CLARA GEMIGNANI

**Análise dos IncRNAs como Biomarcadores Moleculares de
Glioblastoma no Contexto de Biópsia Líquida**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado a Universidade Estadual
Paulista, como parte das exigências para
a obtenção do título de Bacharel, do curso
de Graduação em Ciências Biomédicas.

Botucatu, 8 de dezembro de 2025.
(data da defesa)

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Adriana Camargo Ferrasi
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prof^a. Estela de Oliveira Lima
Faculdade de Medicina de Botucatu

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, aos responsáveis pela minha formação acadêmica e pessoal: à minha família, que nunca mediu esforços para me proporcionar o estudo e as melhores oportunidades e que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos, dando-me forças para continuar a caminhada com foco e determinação. Tudo o que sou hoje é reflexo do amor que recebi durante toda minha vida. Vocês são minha base e a origem de cada conquista que eu alcançar. Tudo que eu faço é sempre por e para cada um de vocês. Espero, um dia, retribuir tudo que fazem por mim.

Às minhas amigas da minha cidade natal e da faculdade, que são meu alicerce e meu conforto pessoal. Agradeço por acreditarem em mim mais do que eu mesma. Obrigada por sempre deixarem o percurso mais leve e divertido, por compartilharem dos momentos bons e também das mesmas inseguranças e receios, crescer ao lado de pessoas que te incentivam e celebram suas vitórias é um grande privilégio; sei que vibram por mim da maneira mais genuína e verdadeira possível, assim como torço para cada uma de vocês.

Também gostaria de direcionar meus agradecimentos a todos meus companheiros de jornada, que independente do tempo em que passaram por minha vida, sempre deixam um aprendizado.

Aos meus professores, doutorandos e orientadores que também fizeram parte da minha jornada acadêmica e científica e que integram cada parte do conhecimento que detenho hoje. Em especial à Professora Adriana Camargo e à Me. Driéle Bretones que me auxiliaram neste fim de caminhada e são responsáveis pela conclusão deste trabalho, obrigada por me acolherem e me guiarem neste momento tão importante.

RESUMO

O Glioblastoma é o tumor cerebral primário mais comum e letal, com prognóstico desfavorável e sobrevida de até 15 meses. O diagnóstico padrão baseia-se no exame anatomopatológico e imagens pré-operatórias, enquanto o tratamento envolve a ressecção cirúrgica combinada à radioterapia e/ou à quimioterapia. Entretanto, a natureza infiltrativa e difusa do tumor frequentemente resulta em ressecção incompleta, e consequentemente em elevadas taxas de recidiva, dificultando o acompanhamento longitudinal e a estimativa prognóstica individualizada. Diante disso, a biópsia líquida surge como ferramenta promissora para o diagnóstico precoce e classificação molecular do tumor, permitindo uma decisão clínica de tratamento mais assertiva e menos invasiva. Nesse contexto, os lncRNAs emergem como potenciais biomarcadores circulantes devido ao seu envolvimento com mecanismos celulares na tumorigênese e capacidade de serem liberados nos fluidos corporais diretamente ou via exossomos, tornando-os detectáveis por meio de análises de biópsia líquida. Diante disso, destaca-se a relevância do presente estudo em reunir dados desses possíveis biomarcadores, sobretudo diante da escassez de pesquisas nacionais sobre o papel dos lncRNAs como potenciais marcadores prognósticos para o glioblastoma. Foi conduzida uma revisão bibliográfica com foco em pesquisas atuais que avaliaram lncRNAs como biomarcadores circulantes em pacientes com GBM. Os resultados das análises demonstraram poucos resultados clínicos de lncRNAs dentro do contexto de amostras de biópsias líquidas, com a maioria dos trabalhos sendo revisões teóricas sobre os mecanismos celulares dos lncRNAs. Conclui-se que há uma lacuna significativa entre esse potencial teórico e a aplicação clínica dos lncRNAs no prognóstico e diagnóstico de GBM no contexto de biópsia líquida. Dessa forma, esta revisão sintetiza o conhecimento atual e identifica uma área prioritária para pesquisas futuras, servindo como base para o avanço do diagnóstico molecular não invasivo do glioblastoma.

Palavras-chave: Glioblastoma, lncRNAs, Biópsia Líquida, Biomarcadores, Prognóstico.

ABSTRACT

Glioblastoma is the most common and lethal primary brain tumor, with an unfavorable prognosis with a median survival of approximately 15 months. The standard diagnosis is based on histopathological examination and preoperative imaging, while treatment involves surgical resection combined with radiotherapy and/or chemotherapy. However, the infiltrative and diffuse nature of the tumor often results in incomplete resection and consequently high recurrence rates, hindering longitudinal monitoring and individualized prognostic assessment. Therefore, liquid biopsy emerges as a promising tool for early diagnosis and molecular classification of the tumor, enabling more assertive and less invasive clinical treatment decisions. In this context, lncRNAs emerge as potential circulating biomarkers due to their involvement in cellular mechanisms of tumorigenesis and their ability to be released into bodily fluids directly or via exosomes, making them detectable through liquid biopsy analyses. Given the scarcity of national research on the role of lncRNAs as potential prognostic markers for glioblastoma, this study conducted a literature review focusing on current research that evaluated lncRNAs as circulating biomarkers in GBM patients. The analysis results demonstrated few clinical findings on lncRNAs in the context of liquid biopsy samples, with most publications being theoretical reviews on the cellular mechanisms of lncRNAs. It is concluded that there is a significant gap between this theoretical potential and the clinical application of lncRNAs for GBM prognosis and diagnosis via liquid biopsy. Thus, this review synthesizes current knowledge and identifies a priority area for future research, serving as a foundation for advancing non-invasive molecular diagnosis of glioblastoma.

Keywords: Glioblastoma, lncRNAs, Liquid Biopsy, Biomarkers, Prognosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Classificação molecular dos gliomas difusos do tipo adulto baseada no perfil de mutação do IDH.....	5
Figura 2 - Fluxograma revisão integrativa.....	13
Figura 3. Mecanismo de ação do lncRNA HOTAIR via biópsia líquida.....	19

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Panorama geral dos lncRNAs candidatos a biomarcadores prognósticos e diagnósticos no Glioblastoma (GBM).....	15
---	----

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

CNS5 – 5ª edição da Classificação de Tumores do SNC pela OMS

CTCs – Células Tumorais Circulantes

ceRNA – RNA endógeno competitivo (*Competitive Endogenous RNA*)

cfDNA – DNA livre de células (*Cell Free DNA*)

cfRNA – RNA livre de células (*Cell Free RNA*)

ctDNA – DNA tumoral circulante

ctRNA – RNA tumoral circulante

DNA – Ácido Desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid*)

EMT – Transição Epitelial-Mesenquimal

EVs – Vesículas Extracelulares (*Extracellular Vesicle*)

GBM – Glioblastoma

IDH – Isocitrato Desidrogenase (*Isocitrate Deshydrogenase*)

Ki67 – Marcador de proliferação celular

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

lncRNA – RNA longo não codificante (*Long Non-Coding RNA*)

miRNA – MicroRNA

mRNA – RNA mensageiro

ncRNA – RNA não codificador (*Noncoding RNA*)

NGS – Sequenciamento de Nova Geração (*Next Generation Sequencing*)

OS – Sobrevida Global (*Overall Survival*)

PCNSL – *Primary Central Nervous System Lymphoma*

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction*)

PFS – Sobrevida Livre de Progressão (*Progression-Free Survival*)

PIC – Pressão Intracraniana

RNA – Ácido Ribonucleico (*Ribonucleic Acid*)

ROC – Curva Característica de Operação do Receptor (*Receiver Operating Characteristic*)

RT-qPCR – Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa (*Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction*)

SNC – Sistema Nervoso Central

TERT – Transcriptase Reversa da Telomerase (*Telomerase Reverse Transcriptase*)

TGF- β – Fator de Crescimento Transformador beta

TMZ – Temozolomida

TP53 – Proteína Supressora de Tumores p53 (*Tumor Protein p53*)

TS – Timidilato Sintase

WHO – Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Tumores do Sistema Nervoso Central (SNC)	1
1.2 Classificação dos Gliomas	3
1.3 Glioblastoma	6
1.4 Biomarcadores de Biópsia Líquida	8
1.5 RNAs Longos Não Codificantes	10
2. OBJETIVOS	12
3. METODOLOGIA	12
4. RESULTADOS	14
5. DESENVOLVIMENTO	16
6. CONCLUSÃO	24
7. REFERÊNCIAS	24

INTRODUÇÃO

1.1 Tumores do Sistema Nervoso Central (SNC)

O Sistema Nervoso Central (SNC) possui diferentes tipos celulares que se baseiam nos neurônios e nas células da glia, sendo os primeiros responsáveis pela maioria das funções exclusivas do sistema nervoso, enquanto a glia contribui para a atividade e o processamento da atividade neuronal, principalmente através do fornecimento da sustentação, do efeito isolante e do suporte nutricional¹.

As células gliais, assim como todas as células dos tecidos corporais, estão sujeitas a mutações genéticas que desregulam o ciclo celular e propiciam a formação de tumores, sejam eles benignos ou malignos. A perturbação da hemodinâmica e do ciclo celular dessas células resulta em uma massa anormal que persiste da mesma maneira excessiva após a interrupção do estímulo que originou as alterações. Toda a população de células neoplásicas dentro da massa tumoral surge da proliferação e inibição da morte celular de uma única célula que sofreu alterações genéticas². Esta célula-mãe inicial consegue transmitir às células filhas essa vantagem genética, dando origem a um clone de células que não respondem mais aos mecanismos de controle de proliferação, diferenciação e morte que governam a comunidade celular. O panorama genômico de cada tumor individual é heterogêneo e se modifica ao longo do tempo².

Este processo é consequência da plasticidade celular, que é a capacidade que as células têm de se transformar e adotar uma nova identidade. Por isso, a tumorigênese é um processo no qual as células normais adquirem uma identidade maligna, originando uma população clonal aberrante. Embora os tumores tenham origem monoclonal, com o tempo os constituintes celulares se tornam extremamente heterogêneos (subclones) dada sua instabilidade genômica³.

Assim, a carcinogênese é, portanto, um processo multietapas e sequencial, onde as alterações genéticas resultam em acúmulo de novas mutações que promovem regulação defeituosa da proliferação celular, da resistência à morte apoptótica, e da habilidade de invadir os tecidos adjacentes e metastatizar para sítios distantes. Por se dividirem rapidamente, estas células malignas tendem a ser muito agressivas e incontroláveis^{3,4}.

O câncer é a denominação dada a um conjunto de mais de 100 doenças que, caracteristicamente, são representadas por crescimento celular desordenado³. Epidemiologicamente, é uma das principais causas de morte no mundo, responsável

por quase 20 milhões de óbitos em 2022, ou aproximadamente uma em cada seis mortes⁵.

Em relação aos tumores do SNC, é possível defini-los como lesões expansivas que ocupam volume e podem ser originários de neoplasias, processos tumorais inflamatórios ou vasculares, e que se dividem em neoplasias primárias e secundárias. As primárias têm origem no tecido neuroepitelial, aracnóide, células da oligodendroglia, micróglia ou outros componentes intracranianos. Já as secundárias advêm de metástases de focos primários, normalmente no pulmão, na mama, gastrointestinais, renais ou melanoma⁶.

Embora representem apenas cerca de 1,7 % dos novos casos de câncer⁷, os tumores do SNC apresentam notável heterogeneidade histomorfológica e molecular, exigindo investigação epidemiológica detalhada⁷. Mundialmente, ocorrem cerca de 310 mil novos casos de tumores do sistema nervoso central (SNC) por ano⁸. Desse número total, mais de 250 mil novos casos de tumores cerebrais malignos primários são diagnosticados anualmente em todo o mundo⁹. Essa neoplasia ocupa a 19ª posição em incidência e a 12ª em mortalidade entre todos os tipos de câncer, evidenciando sua alta letalidade⁸. No Brasil, o número estimado de casos novos anuais para o triênio 2023–2025 é de 11.490, sendo 6.110 em homens e 5.380 em mulheres¹⁰.

Essas neoplasias intracranianas podem surgir de diversos tecidos cerebrais e são caracterizadas por sua diversidade histológica, localização anatômica e potencial de crescimento infiltrativo. Tal variabilidade explica por que os sinais e sintomas dos tumores do SNC dependem fundamentalmente da localização e da taxa de crescimento, podendo incluir manifestações gerais, relacionadas ao aumento da pressão intracraniana (PIC), e manifestações focais, refletindo o efeito do tumor sobre estruturas específicas¹¹.

Por exemplo, os tumores do lobo frontal são, inicialmente, silenciosos e, com o tempo, podem haver alterações de personalidade, distúrbio do juízo crítico, abulia, anormalidades de marcha, incontinência urinária e reflexos primitivos. Já os tumores do lobo temporal tendem a causar crises convulsivas que variam de alucinações olfativas simples, sentimento de medo, a crises parciais complexas. Enquanto os tumores parietais causam perda sensitiva cortical e da percepção, hemiparesia e distúrbios das capacidades visioespaciais. Os tumores occipitais provocam alterações do campo visual ou, mais raramente, crises convulsivas visuais. Os

tumores talâmicos levam a distúrbios sensitivos contralaterais, alterações cognitivas e, em menor frequência, afasia. Sinais de múltiplos nervos cranianos são vistos na meningite carcinomatosa, que pode ocasionar a síndrome do mento dormente, por comprometimento do nervo mandibular e caracterizada por dormência no queixo e lábio inferior³.

Porém, os sinais gerais podem se resumir a letargia, confusão, cefaleia, náuseas, vômitos, paralisia do sexto nervo, papiledema e déficit cognitivo, enquanto sintomas mais específicos aparecem conforme a evolução do tumor¹¹⁻¹².

No que tange ao diagnóstico e ao tratamento, a cirurgia permanece como a pedra angular tanto da avaliação diagnóstica e prognóstica quanto da melhor abordagem terapêutica com potencial curativo. Para o diagnóstico são utilizados exames laboratoriais e técnicas de imagem, os quais são essenciais para a localização da lesão e, conseqüentemente, para a definição do tratamento, sendo complementados pela análise histopatológica e molecular da massa tumoral obtida na ressecção cirúrgica¹².

Estudos recentes demonstraram que tumores com características microscópicas e histológicas semelhantes podem se comportar de forma diferente, dependendo de suas particularidades moleculares e genéticas¹³. Por isso, cada vez mais, a análise molecular se torna essencial para identificar o painel de alterações genéticas do tumor, e assim definir terapia e avaliar prognósticos mais assertivos.

1.2 Classificação dos Gliomas

Gliomas são o tipo mais comum de câncer do SNC, compostos por células que se assemelham às células gliais normais, como astrócitos, oligodendrócitos e células endimárias. Essas células fornecem suporte estrutural ao SNC e desempenham funções essenciais no cérebro, incluindo manutenção da barreira hematoencefálica¹³. De modo geral, os gliomas são divididos em gliomas circunscritos (benignos, curáveis com ressecção completa) e gliomas difusos (mais malignos, não curáveis apenas com cirurgia)¹⁴. Antes de 2016, os gliomas difusos eram classificados apenas por características morfológicas¹⁵.

A partir da edição de 2016, a Classificação de Tumores da Organização Mundial da Saúde (OMS) passou a incorporar características moleculares essenciais aos critérios morfológicos já estabelecidos, sendo, por exemplo, a mutação em IDH e a codeleção 1p/19q necessárias para o diagnóstico de oligodendroglioma. O status

de mutação em IDH, junto ao grau histológico, é usado para subdividir os astrocitomas em subtipos¹⁶.

A quinta edição da Classificação Dos Tumores do SNC da OMS (CNS5), publicada em 2021, introduz mudanças significativas que ampliam o papel dos diagnósticos moleculares na classificação dos tumores do SNC. Além disso, a CNS5 destacou a importância da graduação dentro de cada tipo de tumor. Assim, são divididas 4 famílias diferentes¹⁶:

- 1) Gliomas difusos do tipo adulto;
- 2) Gliomas difusos pediátricos de baixo grau;
- 3) Gliomas difusos pediátricos de alto grau e;
- 4) Gliomas astrocíticos circunscritos¹⁶.

Dentre os gliomas difusos do tipo adulto há a classificação molecular: astrocitoma mutante para IDH (grau 2, 3 ou 4); oligodendroglioma mutante para IDH com codeleção 1p/19q (grau 2 ou 3); glioblastoma IDH-*wildtype* (tipo selvagem)¹⁷. Uma mudança importante entre as classificações da OMS de 2016 e 2021 é que astrocitomas IDH-mutantes, mesmo apresentando características histopatológicas de alto grau que anteriormente justificariam um grau 4, não são mais chamados de glioblastomas, pois são menos agressivos que seus equivalentes IDH-*wildtype* (*IDH selvagem*). Por outro lado, astrocitomas IDH-*wildtype* de grau II ou III (segundo a numeração antiga), se apresentarem características moleculares mínimas equivalentes às do glioblastoma, passam a ser classificados como CNS WHO grau 4, mesmo na ausência de características histopatológicas de alto grau¹⁶⁻¹⁷.

Nesse sentido, embora características morfológicas de alto grau, como mitoses, necrose e proliferação microvascular, ainda sejam consideradas para identificar um glioblastoma IDH-*wildtype*, existem critérios moleculares mínimos para diferenciá-lo daqueles classificados como IDH-mutante em grau 2 ou 3 pela OMS: são chamados de glioblastoma e recebem um grau 4 da OMS todos os tumores sem mutações em IDH que apresentam concomitantemente ganho do cromossomo 7 e perda do cromossomo 10, amplificação de EGFR ou mutações no promotor de TERT (Figura 1)¹⁶.

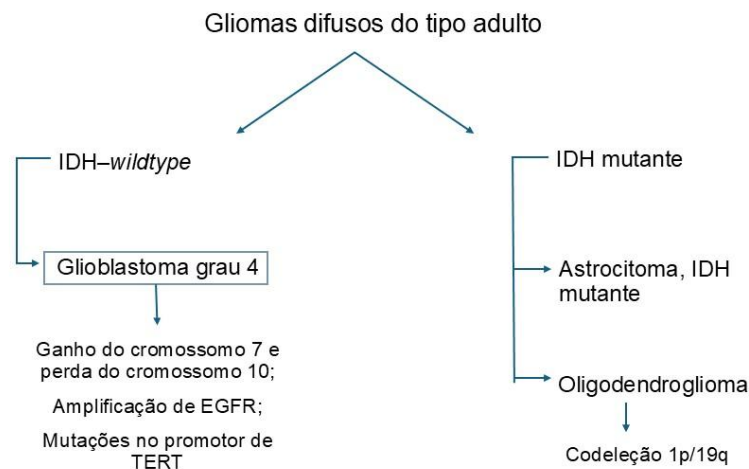


Figura 1. Classificação molecular dos gliomas difusos do tipo adulto baseada no perfil de mutação do IDH, segundo a OMS CNS5 (2021).

Portanto, do ponto de vista molecular, as mutações em IDH desempenham papel central na diferenciação de glioblastomas IDH-*wildtype* de outros astrocitomas. Essas enzimas metabólicas do Ciclo de Krebs, Isocitrato Desidrogenase 1 (IDH1), quando mutadas em resíduos-chave de arginina que normalmente se ligam ao substrato isocitrato, possuem uma mudança radical na sua atividade, na qual convertem α -cetoglutarato em D-2-hidroxioglutarato (D2HG)¹⁸. Isso resulta na superprodução de um oncometabólito que altera o metabolismo celular e a regulação epigenética¹⁹. Independentemente do mecanismo, parece provável que a capacidade de ganho de função das células de produzir D2HG como resultado das mutações em IDH1 contribua para a tumorigênese¹⁹.

Gliomas difusos de baixo grau geralmente acometem pacientes com menos de 50 anos e são ainda classificados em subtipos moleculares, astrocitoma e oligodendroglioma. Tumores cerebrais malignos menos comuns em adultos incluem o linfoma primário do sistema nervoso central (PCNSL) e formas malignas de meningiomas, ependimomas e outros tipos raros de tumores cerebrais²⁰.

Esta divisão molecular mais específica proposta pela OMS permite estratificar de forma mais precisa os tumores e agrupá-los em categorias mais homogêneas e, assim, delinear diagnósticos mais assertivos para pacientes, o que, conseqüentemente, melhora o tratamento e o acompanhamento longitudinal,

beneficiando o prognóstico do paciente.

1.3 Glioblastoma

Glioblastomas (GBM), gliomas difusos IDH-*wildtype*, são tumores cerebrais incuráveis caracterizados por sua heterogeneidade celular e natureza infiltrativa. A incidência do glioblastoma, o tumor cerebral maligno primário mais comum em adultos, aumenta após os 40 anos e atinge o pico em adultos entre 75 e 84 anos²⁰.

Acredita-se que as células do glioblastoma se originam de células-tronco neurais (CTNs), que são progenitoras das linhagens neuronal, astrocítica e oligodendrocítica. Logo, gliomas podem ter o perfil citológico e histológico misto com diferentes subpopulações fenotípicas. Devido à sua capacidade intrínseca de autorrenovação e de adaptabilidade, as CTNs são propensas a se transformar em células do câncer com perfis histológicos variados e responsáveis por dificultar o tratamento da célula neoplásica²¹.

O glioblastoma se distingue por seus mecanismos altamente complexos de evasão imunológica e heterogeneidade pronunciada. Essa variabilidade é evidente tanto dentro do próprio tumor, que pode exibir múltiplos fenótipos simultaneamente, quanto em seu microambiente circundante²¹, apresentando alta incidência de invasão no parênquima cerebral adjacente, sendo, portanto, classificados como um subtipo de glioma difuso²². O microambiente tumoral é único no glioblastoma, pois as células estão rodeadas por neurônios eletricamente ativos, microglia e astrócitos que sustentam o crescimento do tumor. Essas características distintas, juntamente com a presença da barreira hematoencefálica, tornam o tratamento do glioblastoma desafiador²³.

Do ponto de vista histológico, os glioblastomas são caracterizados por atipia celular e nuclear proeminente, frequentes figuras mitóticas, áreas de necrose e proliferação vascular²⁴.

A respeito dos fatores de risco, existem poucos validados para o glioblastoma. A exposição à radiação ionizante é o fator de risco mais fortemente associado ao glioblastoma e é o único conhecido como potencialmente modificável. Existem síndromes genéticas raras associadas ao glioblastoma, como a síndrome de Li-Fraumeni e a síndrome de Lynch; entretanto, elas correspondem a menos de 1% dos casos²⁵.

No que tange aos sintomas clínicos, pacientes com neoplasias intra-axiais de

comportamento mais agressivo, como no caso do GBM, têm histórico de curta duração caracterizado por sinais neurológicos, como convulsões, déficits focais e hipertensão intracraniana⁶⁻²⁶. Apesar da existência desses sintomas, o glioblastoma possui um diagnóstico relativamente raro, com 3 a 4 casos por 100.000 pessoas²⁰. Além disso, o prognóstico do glioblastoma continua sendo um dos piores na oncologia clínica, com uma sobrevida média global (OS) de 16 a 18 meses²⁴. Em relação ao diagnóstico, para a maioria dos pacientes, sintomas relacionados ao efeito de massa (alteração física no cérebro causada pelo crescimento do tumor) se desenvolvem rapidamente, e características de imagem de alto grau, como realce periférico e necrose central, geralmente estão presentes no diagnóstico¹⁶.

Retomando as classificações, a presença de qualquer um dos cinco critérios a seguir é suficiente para designar um glioma astrocítico difuso IDH-*wildtype* como glioblastoma: proliferação microvascular; necrose; mutação no promotor de TERT; amplificação do gene EGFR; alterações no número de cópias dos cromossomos +7/-10²⁷. Tumores com essas características não são mais chamados de “glioma astrocítico difuso IDH-*wildtype* com características moleculares de glioblastoma multiforme”²⁷. Além dos fenótipos EGFR, promotor TERT e +7/-10 para esses critérios diagnósticos, outras anormalidades moleculares comuns incluem deleção de CDKN2A/B, alterações em PTEN, mutações em TP53, amplificação de MDM2 ou MDM4, mutações BRAF V600E (especialmente no subtipo epitelióide) e metilação do promotor de MGMT¹⁶. Dessas, o status de metilação do promotor de MGMT é o mais crítico, pois prediz a resposta mais efetiva a drogas quimioterápicas alquilantes, como temozolomida (TMZ) e lomustina¹⁶.

O tratamento é o básico trimodal de primeira linha, que envolve a ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia adjuvante. A cirurgia é a primeira e principal etapa do tratamento e tem como objetivo a observação histológica e a distinção dos diferentes tipos de gliomas com base em sua caracterização molecular e com o objetivo principal de atingir o mais alto nível de ressecção para propiciar um melhor prognóstico. Porém, devido à característica altamente infiltrativa do tumor, é possível que células tumorais de microinvasão ainda fiquem presentes no tecido nervoso, por isso a radioterapia e quimioterapia são ainda indicadas como o principal tratamento adjuvante, sendo a primeira feita de maneira direcionada e a segunda com quimioterápicos que facilitem a ação da radioterapia, a exemplo da TMZ²⁰.

Apesar disso, o glioblastoma apresenta uma probabilidade de sobrevida de 5

anos de aproximadamente 10%²⁸. Conclui-se que o GBM ainda é uma doença de difícil controle e o acúmulo de grandes conjuntos de dados na busca pela combinação mais eficaz para diagnosticar e distinguir diferentes tipos de GBM tem despertado grande interesse na comunidade científica. Em síntese, a identificação de alvos moleculares e a exploração de tratamentos eficazes para inibir a proliferação dessa neoplasia extremamente agressiva e que possui um mau prognóstico são altamente desejáveis para possibilitar o diagnóstico precoce e monitorar a progressão, regressão e recorrência do tumor, de modo a promover tratamentos mais personalizados voltados para cada tipo molecular daquele tumor.

1.4 Biomarcadores de Biópsia Líquida

Como discutido anteriormente, a detecção precoce do câncer pode reduzir a chance de prognósticos pobres e melhorar de forma significativa a sobrevida daquele paciente. Assim, um grande esforço tem sido dedicado à exploração de novas tecnologias para identificar sinais iniciais da doença. Os biomarcadores de câncer abrangem uma ampla gama de entidades bioquímicas, como ácidos nucleicos, proteínas, açúcares, pequenos metabólitos, parâmetros citogenéticos e citocinéticos, bem como células tumorais inteiras. Eles podem ser utilizados para avaliação de risco, diagnóstico, prognóstico e para a previsão da eficácia do tratamento, da toxicidade medicamentosa e à recorrência tumoral²⁹. Nesse sentido, o termo biomarcador pode ser definido como uma molécula que pode atuar objetivamente como um indicador de um processo fisiológico ou patológico³⁰.

No contexto das vias moleculares relevantes para o prognóstico e diagnóstico do GBM, destaca-se a mutação no gene IDH1 como um fator crucial. Descoberta por Yan et al. (2009), essa alteração geralmente envolve a substituição do aminoácido Arginina pela Histidina na posição do códon 132. Esta única mutação confere características genéticas e clínicas marcadamente distintas aos tumores mutantes em comparação com os tumores do tipo selvagem. Nesse estudo seminal, foi observado que pacientes com essa mutação apresentaram melhor prognóstico do que aqueles com genes IDH do tipo selvagem. Devido a localização da mutação ser concentrada em um único aminoácido (R132), o uso dessa alteração genética simplifica as abordagens diagnósticas e prognósticas. Desse modo, a mutação desse gene usada para a atual classificação dos gliomas, segundo a OMS, é um

exemplo elucidativo do valor dos parâmetros moleculares como indicativos de biomarcadores³¹

Os biomarcadores oncológicos podem ser encontrados primariamente em tecidos tumorais. Diante disso, as biópsias líquidas surgem como alternativas complementares ou substitutas com opções menos invasivas ao paciente. Isso se explica devido ao fato de que a ressecção tumoral é um processo cirúrgico de risco não negligenciável, principalmente ao que se diz respeito às neoplasias cerebrais, visto a localização em que o tumor se encontra: envolto por tecido nobre e sensível. Assim, a biópsia tecidual representa uma potencial ameaça à função neurológica devido ao risco de lesão ao longo do trajeto da punção³².

Dessa forma, o acompanhamento longitudinal, que requer coletas repetidas, apresenta-se como um desafio metodologicamente significativo, o que dificulta a vigilância da evolução clonal tumoral essencial para a medicina de precisão. Logo, a biópsia líquida é considerada a abordagem mais recente e avançada para a detecção de biomarcadores relacionados ao prognóstico da doença e à resposta ao tratamento devido ao monitoramento minimamente invasivo³³.

Essa técnica consiste em avaliar diversos componentes nos compartimentos líquidos, que incluem vesículas extracelulares (EVs) (exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos), células tumorais circulantes (CTCs), DNA nuclear livre de células (cfDNA), DNA tumoral circulante (ctDNA), RNA livre de células (cfRNA), RNA Tumoral Circulante (ctRNA)³⁴.

As EVs são vesículas de membrana lipídica única secretadas por células em todos os fluidos corporais³⁴. Células do sistema nervoso central (SNC), como neurônios e células da glia, são conhecidas por liberar EVs no espaço extracelular, as quais podem ser identificadas por diversos métodos, incluindo por marcadores específicos de superfície celular ou pela análise de seu conteúdo molecular. As células tumorais circulantes (CTCs) são células que se desprendem do sítio primário de tumores e entram na circulação sanguínea. Outro componente da biópsia líquida é o DNA livre de células (cfDNA), que se refere a fragmentos de DNA de fita dupla liberados por células nucleadas que circulam livremente na corrente sanguínea. Dentro dessa classe geral, o DNA Tumoral Circulante (ctDNA) constitui o subconjunto de fragmentos de DNA liberados especificamente pelas células tumorais. O ctDNA é de particular interesse, pois reflete o perfil genético do tumor, e

a presença de níveis elevados tem sido associada à progressão da doença, indicando mutações gênicas e perfis epigenéticos específicos³⁴.

Da mesma forma, os RNAs livres de células (cfRNAs) englobam todas as moléculas de RNA liberadas nos fluidos biológicos, sendo liberadas tanto por secreção passiva de células necróticas ou apoptóticas, quanto por secreção ativa mediada por vesículas membranosas. Essas moléculas incluem RNAs mensageiros (mRNAs) e RNAs não codificadores (ncRNAs), estes últimos subdivididos em formas pequenas (por exemplo, microRNAs, miRNAs) e longas (lncRNAs). Quando provenientes de células malignas, esses RNAs são classificados como RNA Tumoral Circulante (ctRNA), abrangendo também mRNAs, miRNAs e lncRNAs de origem tumoral³⁵⁻³⁶. Os miRNAs desempenham um papel crucial na regulação da expressão gênica e são ativamente liberados no líquido cefalorraquidiano (LCR) e na corrente sanguínea, atuando tanto como biomarcadores quanto como alvos terapêuticos no glioblastoma (GBM), influenciando a tumorigênese e a progressão do câncer³⁶. Enquanto, os RNAs longos não codificantes (lncRNA) desempenham papéis importantes na proliferação e progressão tumoral, regulando a expressão de oncogenes, genes supressores de tumor e outros genes associados ao câncer por meio de controle epigenético, assim como por meio de regulação transcricional, pós-transcricional e translacional³⁰.

1.5 RNAs Longos Não Codificantes

Os lncRNAs são transcritos de RNA não codificadores de proteínas, com comprimento superior a 200 nucleotídeos. Estes desempenham papéis importantes na proliferação e progressão tumoral por meio da regulação da expressão de oncogenes, genes supressores tumorais e outros genes associados ao câncer, tanto pelo controle epigenético quanto pela regulação transcricional, pós-transcricional e traducional³⁰.

Perfis moleculares abrangentes recentes em muitos tipos de câncer revelaram mutações oncogênicas e expressões aberrantes de genes codificadores de proteínas. No entanto, como o genoma codificador representa menos de 2% de toda a sequência de DNA e muitas mutações foram relatadas em sequências não codificantes, passou-se a entender que a desregulação de RNAs não codificantes pode afetar os fenótipos tumorais³⁷.

Embora os lncRNAs constituam a maioria dos RNAs não codificantes no transcriptoma humano, eles ainda permanecem entre as moléculas de RNA menos bem caracterizadas, o que pode ser atribuído a uma combinação de fatores, incluindo baixos níveis de expressão, baixa conservação e alta especificidade tecidual/celular³⁸. A complexa biologia dos lncRNAs ainda dificulta prever o que alterações em transduções de sinais acarretará em termos de funções biológicas para as células, considerando sua atuação em múltiplos níveis de regulação gênica. Entretanto, há um número cada vez maior de estudos a respeito dos lncRNAs que desempenham papéis regulatórios importantes e diversos, tanto em condições fisiológicas quanto patológicas, incluindo a regulação negativa e positiva da expressão gênica. Nesse sentido, mecanismos moleculares recorrentes para lncRNAs estão sendo agora estudados e tecnologias emergentes estão expandindo a capacidade dos pesquisadores de anotar funcionalmente lncRNAs associados ao câncer³⁹.

A localização subcelular dessas moléculas está intimamente associada às suas funções, embora os fatores que determinem essa localização ainda sejam desconhecidos. De modo geral, os lncRNAs apresentam um padrão de localização mais nuclear quando comparados aos mRNAs, apesar de grandes quantidades de lncRNAs estarem localizadas no citoplasma. Essa localização nuclear permite a regulação da expressão gênica através da modificação de cromatina e de recrutamento de fatores de transcrição, formando uma estrutura de suporte loci-específico para essas moléculas regulatórias. Além disso, transcritos de RNA recém-sintetizados no núcleo são processados por diferentes mecanismos, incluindo splicing, poliadenilação, adição de cap 5' e metilação. Durante esses processos, os lncRNAs afetam o splicing de RNA e a estabilidade do mRNA³⁷⁻³⁹. Ademais, os lncRNAs interagem com outros tipos de moléculas de RNA nas células, como mRNA e miRNA, e modulam sua estabilidade, tradução e metabolismo.

Uma dessas interações pode ser exemplificada pelo efeito que os lncRNAs exercem sobre os miRNAs, que é o chamado esponja de miRNA. Neste caso, os lncRNAs citoplasmáticos com sítios de ligação para miRNAs interagem com essas moléculas por meio de sequências-semente, isto é, pelo sequestro específico de sequências, que reduzem seu efeito regulatório sobre o mRNA alvo³⁷.

No contexto do câncer, os lncRNAs conseguem influenciar cada uma das características pontuais dos *hallmarkes* do câncer (descritas por Hanahan e

Weinberg em 2000⁴⁰ e revisadas em 2011⁴¹), que precedem e são cruciais para o desenvolvimento de neoplasias com genótipo e fenótipo de malignidade. Sob essa ótica, os lncRNAs, resumidamente, estão presentes nos circuitos de amplificação e proliferação, supressão, viabilidade e motilidade celular.

Um exemplo elucidativo em relação à motilidade celular, seria a superexpressão de **MALAT1**, um lncRNA nuclear abundante e evolutivamente conservado que foi associado a um alto risco de progressão metastática em pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas em estágio inicial. A depleção de MALAT1 em células desse carcinoma prejudica a motilidade celular *in vitro* e a metástase em camundongos, sugerindo que a superexpressão desse lncRNA no câncer pode promover fenótipos de ganho de função que não são observados durante o desenvolvimento ou a homeostase de tecidos normais³⁹.

2.OBJETIVOS

Investigar e levantar evidências sobre a aplicação dos lncRNAs (*long noncoding RNAs* - RNAs longos não codificantes) como biomarcadores de glioblastoma (GBM), no contexto da biópsia líquida. Assim como descrever seus mecanismos moleculares, de modo a ampliar novas perspectivas de diagnóstico, prognóstico e possíveis tratamentos.

3.METODOLOGIA

O presente estudo foi desenvolvido por meio de uma revisão integrativa, utilizando-se de uma síntese de conhecimento a partir da avaliação de estudos prévios, com o objetivo de obter uma compreensão abrangente acerca do tema proposto e identificar diferentes perspectivas.

Após a definição do tema, realizou-se uma busca sistematizada nas bases PubMed, Scopus e Embase. Inicialmente, foi realizada uma pesquisa geral, utilizando termos relacionados a lncRNAs como biomarcadores prognósticos em glioblastoma, sem filtragem específica para amostras circulantes. Para operacionalizar a busca, os termos foram combinados por meio do operador booleano AND, contemplando simultaneamente os seguintes aspectos: glioblastoma (glioblastoma, GBM), long non-coding RNAs (long noncoding RNA, long non-coding

RNA, lncRNA), e desfechos clínicos (prognosis, survival, overall survival, progression-free survival, hazard ratio, outcome).

Os resultados dessa etapa foram então importados para o Mendeley, permitindo a organização das referências e a remoção de duplicatas.

Em seguida, foi realizada uma busca mais específica, associando os mesmos descritores e termos referentes a biomarcadores circulantes (circulating, blood, plasma, serum, liquid biopsy), seguida do mesmo processo de consolidação de duplicatas.

Para o recorte final, foram aplicados os seguintes critérios de inclusão e exclusão: (i) estudos conduzidos com adultos diagnosticados com GBM, com ênfase na maior relevância epidemiológica; (ii) análise de lncRNAs individuais ou painéis de lncRNAs detectados em amostras de biópsia líquida; (iii) artigos publicados a partir de 2021, em conformidade com a classificação WHO CNS5; e (iv) publicações disponíveis em português ou inglês.

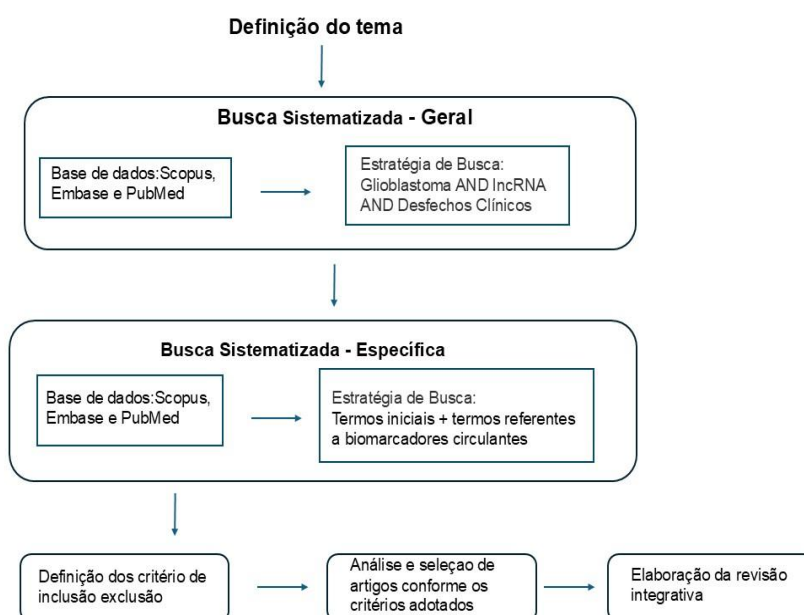


Figura 2 - Fluxograma revisão integrativa. Primeiro foi realizada uma busca sistematizada geral, depois foi realizada uma busca específica para biópsias líquidas. Ambas etapas foram realizadas com as bases de dados Scopus, Embase e Pubmed. Esses trabalhos, então, passaram por seleção crítica para elaboração da revisão integrativa.

4.RESULTADOS

Os resultados da primeira etapa foram importados para o Mendeley. Após essa consolidação, a biblioteca final passou a conter 279 artigos únicos, garantindo que cada estudo fosse considerado apenas uma vez.

Observou-se que, quando a pesquisa foi realizada de forma geral, abrangendo tanto biópsias líquidas quanto amostras tumorais, os resultados foram substancialmente numerosos. No entanto, ao refinar a busca para incluir exclusivamente amostras circulantes, o número de artigos reduziu-se significativamente. Esse achado evidencia que poucos lncRNAs foram validados como biomarcadores prognósticos em biópsias líquidas, constituindo o foco central do presente estudo, considerando o conforto do paciente e a viabilidade de acompanhamento longitudinal proporcionados por essa abordagem.

Com a aplicação dos filtros referentes às biópsias líquidas, a busca resultou em uma bibliografia final de 123 artigos. Após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 9 artigos foram selecionados para análise qualitativa aprofundada. Desses, 3 estudos focaram especificamente na validação de lncRNAs como biomarcadores em amostras de biópsia líquida de pacientes com GBM e constituíram o corpus principal para a discussão dos resultados. Entretanto, para este presente estudo e considerando os critérios de inclusão previamente estabelecidos, foram encontrados apenas 2 estudos de fato dentro dos critérios e 1 de 2017 que foi considerado dada sua relevância. O estudo de 2017 é uma pesquisa completa que buscou caracterizar diversos lncRNAs presentes em amostras tumorais a fim de afunilar para os mais relevantes dentro do contexto de expressão em amostras de soros de pacientes com GBM.

Os artigos excluídos nesta fase final não abordavam diretamente a detecção de lncRNAs em amostras circulantes ou focavam em contextos tumorais distintos do GBM.

Tabela 1 - Principais lncRNAs investigados como biomarcadores líquidos no glioblastoma.

lncRNA	Amostra Biológica	Via Molecular/Mecanismo	Função/Associação Clínica	Estudo
MALAT1	Soro	Regula miR-203 → ↑Timidilato Sintase (TS)	Resistência à (TMZ); baixa expressão em respondedores	Chen et al., 2017
HOTAIR	EVs	Regula miR-526b-3p → ↑ EVA1	Resistência à TMZ; proliferação e invasão; pior prognóstico	Wang et al., 2022
LINC00565	Soro	Não elucidada (estudo diagnóstico)	Biomarcador diagnóstico (70% sensibilidade, 100% especificidade); pior sobrevida	Amer et al., 2023
LINC00641	Soro	Não elucidada (estudo diagnóstico)	Biomarcador diagnóstico (100% sensibilidade, 93,3% especificidade); pior sobrevida global e livre de progressão	Amer et al., 2023
SOX21-AS1	Exossomos (dados <i>in silico</i>)	Rede ceRNA (não totalmente elucidada)	Baixa expressão associada a pior sobrevida	Doghish et al. (revisão)
STEAP3-AS1	Exossomos (dados <i>in silico</i>)	Rede ceRNA (não totalmente elucidada)	Alta expressão associada a pior sobrevida	Doghish et al. (revisão)

5. DESENVOLVIMENTO

Revisões sistemáticas demonstram o potencial uso de lncRNAs como marcadores prognósticos, especificando suas ações em vias moleculares importantes para a tumorigênese. Com os avanços nas técnicas de biologia molecular e sequenciamento (NGS), diversos tipos de lncRNAs, anteriormente considerados como “matéria escura” ou “ruído da transcrição”, passaram a ser reconhecidos como importantes reguladores da expressão gênica, do remodelamento da cromatina, da memória epigenética, do splicing de RNA e da tradução, entre outros processos moleculares⁴¹.

Os lncRNAs regulam a expressão gênica em múltiplos níveis, modificam a estrutura e a função da cromatina, além de influenciar a transcrição de genes próximos e distantes. Também possuem o potencial de afetar o *splicing*, a estabilidade do RNA e a sua tradução. A produção e a organização de organelas e condensados nucleares também são reguladas por lncRNAs. Ademais, eles regulam a transcrição gênica formando estruturas 3D de DNA, impedindo a ligação de fatores de transcrição ou atuando como “armadilhas” (decoy RNAs)⁴².

Essa multifuncionalidade os torna elementos-chave na fisiopatologia de doenças complexas como o câncer e, consequentemente, alvos promissores para o desenvolvimento de biomarcadores. Os lncRNAs, por serem frequentemente expressos de maneira estável e específica tanto no tecido quanto no plasma e outros fluidos corporais⁴⁴, destacam-se como candidatos ideais como forma de detecção não invasiva em fluidos biológicos e que, assim, possam ser um instrumento de acompanhamento da evolução temporal do tumor.

Pesquisas a respeito dos lncRNAs focam não apenas em como esse biomarcador é capaz de detectar a presença do tumor, como também modulam diretamente vias moleculares ativas que estão intimamente ligadas à progressão tumoral (ex.: angiogênese, proliferação, invasão)⁴³. Por isso, estudos recentes e revisados para discussão a seguir ilustram com precisão como lncRNAs específicos estão intrinsecamente ligados à agressividade do GBM.

Dado o grande número de tipos de lncRNAs em cérebros saudáveis e a extensa heterogeneidade do tecido de GBM, é necessário considerar esses transcritos ao avaliar a classificação da doença, fazer prognósticos ou investigar sua resposta a terapias experimentais. Estudos demonstraram uma ligação entre

lncRNAs e muitos processos implicados na formação e crescimento do GBM⁴²⁻⁴⁴. Os lncRNA estão envolvidos em: proliferação celular (MIAT), apoptose celular (MALAT1), invasão celular (ATB), angiogênese (HULC), resposta a danos no DNA (PCAT1), regulação do ciclo celular (CASC7), regulação do microambiente tumoral (FAM66C), hipóxia (MIR210HG), permeabilidade da barreira hematoencefálica (TUG1), progressão tumoral (TUNAR), recidiva (TALC), resistência à temozolomida (ADAMTs9-AS2), resistência à radiação (HMMR-AS1) e outros⁴⁴.

Embora o recorte temporal estabelecido priorize publicações de 2021 a 2025, em conformidade com a classificação WHO CNS5, optou-se por incluir o estudo seminal de Chen et al. (2017) por representar uma das primeiras e mais robustas evidências de validação de lncRNAs (MALAT1) em amostras séricas de pacientes com GBM, preenchendo uma lacuna crítica na literatura sobre biópsia líquida. Este estudo teve como objetivo analisar células de GBM resistentes ao tratamento com TMZ. Inicialmente, foram avaliados tecidos tumorais de pacientes sensíveis e resistentes ao quimioterápico para identificar lncRNAs diferencialmente expressos. A partir dessas análises, quatro lncRNAs apresentaram diferenças significativas entre pacientes respondedores e não respondedores, e foram validados por RT-qPCR.

Posteriormente, MALAT1 foi identificado como o lncRNA mais relevante após análise de 140 amostras séricas (70 respondedores e 70 não respondedores), também por RT-qPCR, mostrando-se significativamente desregulado, com expressão drasticamente reduzida nos pacientes respondedores em comparação aos não respondedores. Com base nesses achados, foram realizados estudos funcionais para investigar o papel do MALAT1 na regulação de mecanismos que influenciam a quimiorresistência em células de GBM⁴⁵.

A partir do critério de estratificação (ponto de corte que oferece o melhor equilíbrio entre sensibilidade, 77,1% e especificidade, 65,7%) definido pela curva de ROC (Curva Característica de Operação do Receptor), observou-se que o número de pacientes que responderam ao tratamento com TMZ foi significativamente maior no grupo com baixa expressão de MALAT1 em comparação ao grupo com alta expressão⁴⁶.

Para investigar os mecanismos moleculares, foram utilizados modelos celulares parentais e resistentes à TMZ, induzidos por concentrações crescentes do fármaco. Observou-se que a expressão de MALAT1 estava aumentada nas células resistentes. Estudos *in silico* e ensaios de luciferase identificaram que MALAT1

exerce seu efeito promovendo resistência à TMZ através da regulação negativa de miR-203 e da consequente promoção da expressão de TS (timidilato sintase). A inibição de MALAT1 resultou na reversão parcial da resistência, aumentando a sensibilidade das células ao quimioterápico. Esses achados indicam que a superexpressão de MALAT1 confere uma eficácia terapêutica significativamente reduzida. Portanto, MALAT1 pode ser um potencial marcador prognóstico e alvo terapêutico em pacientes com GBM⁴⁶.

Um dos elementos amplamente estudados nesse contexto é o lncRNA HOX transcript antisense RNA (HOTAIR). Wang et al. relataram que HOTAIR está positivamente regulado em células de glioblastoma (GBM) resistentes à temozolomida (TMZ). Estudos iniciais evidenciaram que HOTAIR apresenta alta expressão em tecidos clínicos, linhagens celulares e EVs (*extracellular vesicles*; vesículas extracelulares) de pacientes com GBM. Em análises diretas de amostras de pacientes, verificou-se que HOTAIR está significativamente elevado nos EVs séricos de indivíduos com GBM (n=40) em comparação a controles saudáveis (n=40)⁴⁶.

Além disso, observou-se que EVs podem encapsular lncRNAs e transferi-los para células tumorais receptoras. Nesse sentido, células de GBM co-cultivadas com EVs séricos de pacientes apresentaram maior expressão de HOTAIR do que aquelas tratadas com EVs de indivíduos saudáveis. A expressão de HOTAIR também se mostrou elevada em linhagens de células de GBM resistentes à TMZ, obtidas a partir de células sensíveis expostas a concentrações crescentes do fármaco⁴⁶.

Investigações mecanísticas revelaram que HOTAIR regula positivamente a expressão de EVA1 (epithelial V-like antigen 1) ao atuar como esponja molecular para o miR-526b-3p, favorecendo a progressão tumoral e a resistência à TMZ. Este estudo forneceu a primeira evidência de interação direta entre HOTAIR e miR-526b-3p em células de GBM. Para validar o eixo proposto, EVs isolados do soro de pacientes com GBM foram cocultivados com linhagens celulares, transferindo HOTAIR e promovendo agressividade tumoral e resistência à quimioterapia⁴⁶.

O silenciamento de HOTAIR (sh-HOTAIR) resultou no aumento dos níveis de miR-526b-3p e na redução da expressão de EVA1, levando à supressão da proliferação, invasão e resistência à TMZ. Esses efeitos puderam ser revertidos pela superexpressão de EVA1 (oe-EVA1), confirmando que EVA1 atua a jusante de

HOTAIR na via de sinalização. Assim, os dados consolidam que HOTAIR funciona como competitive endogenous RNA (ceRNA) para miR-526b-3p, promovendo a regulação positiva de EVA1 e, conseqüentemente, a progressão do GBM e a aquisição de resistência à quimioterapia⁴⁶.

Além disso, evidenciou-se o papel dos EVs séricos contendo HOTAIR na resistência tumoral à TMZ *in vivo*. Camundongos tratados com células expostas a EVs séricos de GBM apresentaram aumento do volume e peso tumoral, bem como maior expressão da proteína proliferativa Ki67, em comparação com o grupo tratado com EVs de indivíduos saudáveis. O silenciamento adicional de EVA1 produziu efeitos opostos. RT-qPCR demonstrou maior expressão de HOTAIR e EVA1 e menor nível de miR-526b-3p nos tecidos tumorais de camundongos injetados com células U251 co-cultivadas com EVs séricos de GBM⁴⁶.

Como a redução direta de HOTAIR derivado do soro não é possível, realizou-se o knockdown *in vivo* da sua expressão por meio de adenovírus carregando sh-HOTAIR (Ad-sh-HOTAIR). A combinação de GBM-serum-EVs com Ad-sh-HOTAIR foi capaz de reverter o efeito promotor dos EVs sobre a resistência à TMZ em xenotransplantes de GBM. Esses achados demonstram de forma consistente que HOTAIR, transportado pelos EVs séricos de GBM, promove resistência à TMZ *in vivo* via o eixo miR-526b-3p/EVA1⁴⁶.

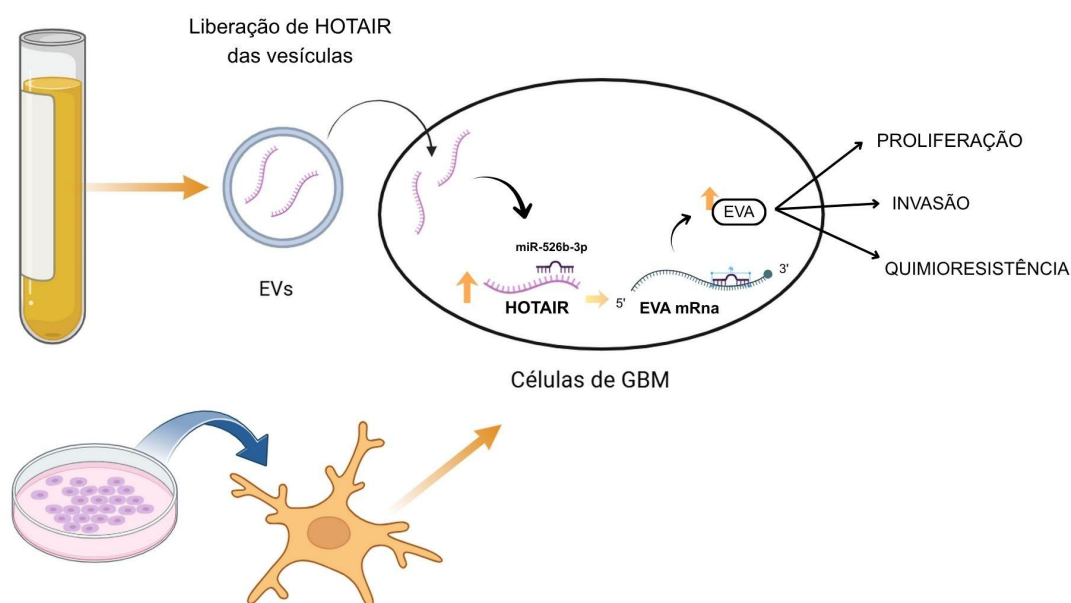


Figura 3. Mecanismo de ação do lncRNA HOTAIR via biópsia líquida. EVs séricos de pacientes com GBM entregam HOTAIR às células tumorais cultivadas por linhagem celular de GBM, onde atua como RNA competitivo endógeno (ceRNA) sequestrando o miR-526b-3p, o que resulta na regulação

positiva de EVA1 e, consequentemente, na proliferação, invasão e resistência à temozolamida. Adaptado de Wang et al., 2022.

Em outro estudo prospectivo, dois lncRNAs foram investigados (lncR565 e lncR641), através da técnica de qPCR para medir e quantificar os níveis de expressão no soro de pacientes com glioblastoma e em amostras de um grupo controle saudável. O lncR565 apresentou aumento significativo nos pacientes com GBM em comparação ao grupo controle; além disso, revelou boa eficácia diagnóstica, com 97% de sensibilidade e especificidade absoluta. Esse resultado indica que o lncR565 está aberrantemente superexpresso em casos de GBM e pode ser utilizado como marcador molecular líquido para diagnóstico da doença⁴⁷.

De forma semelhante, o lncR641 também apresentou aumento significativo nos casos de GBM em comparação aos controles, com eficácia diagnóstica de sensibilidade absoluta e 93,3% de especificidade. Esses achados indicam a utilidade do lncR641 como marcador molecular líquido que pode auxiliar no diagnóstico do GBM. Além disso, a média dos níveis de lncR565 apresentou aumento significativo em pacientes com massa tumoral ≥ 5 cm, indicando que ambos os lncRNAs podem estar relacionados à agressividade tumoral⁴⁷.

A análise do padrão de sobrevida mostrou que níveis mais elevados de lncR565 e lncR641 apresentaram associação significativa com pior PFS (Sobrevida Livre de Progressão) e OS (Sobrevida Global). Esses achados revelam o papel relevante dos lncRNAs como marcadores de biópsia líquida minimamente invasivos, passíveis de serem utilizados como preditores prognósticos⁴⁷.

Outros estudos identificaram três lncRNAs exossomais, HOTAIR, SOX21-AS1 e STEAP3-AS1, que se correlacionaram significativamente com o prognóstico de sobrevida na rede ceRNA por meio de análises *in silico*. Análises adicionais de sobrevivência confirmaram que a alta expressão de HOTAIR e STEAP3-AS1 e a baixa expressão de SOX21-AS1 estão associadas a uma baixa taxa de sobrevida global (OS), indicando a capacidade preditiva potencial desses três lncRNAs. SOX21-AS1 também foi relatado como associado a múltiplos cânceres, apesar de cada tipo de câncer apresentar características moleculares e clínicas muito diferentes entre si. STEAP3-AS1 é menos compreendido dentre os lncRNAs analisados e só foi relatado como associado à baixa sobrevida em carcinoma espinocelular de língua⁴³. Análises de regressão demonstraram alta consistência na expressão dos três lncRNAs entre exossomos e tecidos tumorais⁴³.

Além do HOTAIR, outros lncRNAs como o LINC01956 demonstram potencial como candidatos para biópsia líquida, uma vez que são secretados ativamente por células tumorais em exossomos. O LINC01956 forma um complexo com a proteína FUS e a β -catenina, o que leva à translocação nuclear da β -catenina, ativando assim a via de sinalização Wnt/ β -catenina em células de glioma. A sinalização Wnt/ β -catenina anormal desempenha um papel importante em diversas patologias, especialmente em cânceres humanos. A supressão da β -catenina inibe múltiplos alvos oncogênicos em células de glioma humano. No presente estudo, foi revelado que a redução da expressão de LINC01956 diminuiu a atividade da via Wnt/ β -catenina em células de glioma⁴⁸.

Da mesma forma, o H19 atua como um lncRNA oncogênico no câncer ao promover proliferação celular, invasão, metástase e quimiorresistência por meio de diferentes mecanismos moleculares. Um de seus papéis-chave é como ceRNA, esponjando miRNAs específicos para modular a expressão de genes-alvo. Assim, emerge como um oncogene chave no GBM, regulando eixos como H19/miR-19b-3p/SERPINE1⁴². Embora estes últimos, LINC01956 e H19, ainda careçam de validação direta em amostras líquidas de pacientes, seus papéis centrais na tumorigênese e a natureza do seu mecanismo de ação os tornam alvos prioritários para o desenvolvimento da próxima geração de biomarcadores circulantes.

Revisões bibliográficas abrangentes, como a apresentada por Doghish et al. (2025), são fundamentais para consolidar o conhecimento emergente sobre o papel dos lncRNAs na patogênese do GBM. Este estudo sintetiza a regulação exercida por diversos lncRNAs sobre vias de sinalização cruciais para a progressão tumoral, como a via da WNT/ β -catenin, da TGF- β , da PTEN, da PI3K/AKT, EGFR, da GSK3 β , da JAK/STAT, da Notch e da P53 que fazem parte das seguintes vias celulares, respectivamente: proliferação, apoptose, quimiorresistência (geralmente ao quimioterápico TMZ), migração/invasão e da via da EMT (transição epitelial-mesênquimal)²².

Embora não haja estudos clínicos translacionais de amostras de biópsia líquida em pacientes com GBM, alguns exemplos de lncRNAs que atuam em cada uma dessas vias e foram revisados por estudos anteriores, *in vivo* (camundongos), *in vitro* ou em tecidos tumorais de pacientes são: NEAT1 (oncogênico, superexpresso e ativa a via WNT/ β -catenin); PVT1 (oncogênico, superexpresso e

ativa a via da TGF- β); TUG1 (supressor tumoral, regulado negativamente e ativa a via da PTEN); LINC01426 (oncogênico, superexpresso e ativa a via da PI3K/AKT); CRNDE (elevado, mediado pela ativação da via de sinalização do EGFR); AC023115.3 (reduzido, via da miR-26a-GSK3 β -Mcl1); PEG10 (oncogênico, superexpresso, JAK/STAT); PlncRNA-1 (oncogênico, superexpresso, via Notch); H19 (oncogênico, superexpresso, via P53). A revisão corrobora a premissa central deste trabalho ao destacar o potencial dos lncRNAs como alvos terapêuticos e biomarcadores no contexto do glioblastoma²².

Em relação aos dois estudos iniciais apontados, observa-se que ambos convergem na pesquisa a respeito da análise de células resistentes ao tratamento TMZ em consonância com a observação da atuação dos lncRNAs como esponjas de miRNAs envolvidos na via molecular avaliada. Esses trabalhos, portanto, estabelecem um estudo prévio *in silico* dos lncRNAs relevantes e dos sítios de atuação destes no contexto dos genes em que determinado miRNA atua, convergindo para estudos *in vitro* de células sensíveis e resistentes ao TMZ⁴⁵⁻⁴⁶.

Porém, no estudo de Wang et al., foram extraídas amostras de EVs de pacientes com GBM e pacientes controle para observar a entrega desse lncRNAs *in vitro* através das vesículas exossomais em células de GBM, o que constitui uma diferença metodológica relevante, visto que exossomos oferecem aos lncRNAs uma proteção contra a degradação e podem representar um compartimento molecular mais estável para biomarcadores circulantes. Somada a essa diferença metodológica, há a discrepância em relação à casuística, representada por uma coorte de 40 pacientes com GBM e 40 amostras controle no estudo de Wang et al. em comparação uma coorte mais robusta no trabalho de Chen et al. representada por um número amostral de 140 pacientes com GBM, sendo 70 responsivos ao tratamento e 70 não responsivos.

Ademais, Wang et al. incluíram uma validação complementar *in vivo* que traz uma robustez na análise de como o lncRNA responde dentro de uma rede complexa e integrativa do organismo. Assim, camundongos foram tratados com células expostas a EVs séricos de GBM para análise de resposta tumoral, sendo essa mais proliferativa, tumorigênica e resistente ao TMZ.

Notavelmente, HOTAIR e MALAT1 atuam como ceRNAs ao realizarem o sequestro de miRNAs e, assim, regularem positivamente genes críticos no processo de tumorigênese, o que sugere, que esse possível padrão de regulação

pós-transcricional possa estar relacionado a um mecanismo de quimiorresistência de GBM, abrindo caminhos a estudos para outros possíveis lncRNAs envolvidos nessa pós-transcrição.

Logo, um possível estudo integrativo que combine esses lncRNAs já estudados, analisando a dinâmica em conjunto no processo de quimiorresistência, pode ser muito relevante e elucidativo. Em suma, ambos, além de possuírem um valor prognóstico em relação ao tratamento, podem também atuar como alvo terapêutico, justificado pelo teste pré-clínico feito em Weng et al. e Chen et al. com células de GBM resistentes e tratadas com *knockdown* desses lncRNAs, demonstrando que foram capazes de reverter as resistências das células. Dessa maneira, um tratamento com siRNA pode ser uma possível alternativa para pacientes não responsivos ao tratamento quimioterápico.

Coletivamente, esses lncRNAs (MALAT1 e HOTAIR), além de suas importâncias já muito discutidas em estudos *in silico*, *in vitro* e em amostras tumorais a respeito de sua ação oncogênica e quimiorresistente, emergem como potenciais biomarcadores prognósticos de amostras líquidas no contexto de pacientes que apresentam resistência ao tratamento quimioterápico TMZ. Apesar desses resultados elucidativos e promissores, ainda há a necessidade de estudos adicionais e complementares que usem uma coorte maior de pacientes e usem essas expressões diferenciais de lncRNAs em mais contextos prognósticos além da quimiorresistência ao TMZ.

Já a expressão dos lncR565 e lncR641 por Amer et al. foi calculada diretamente por qPCR, indicando a sua superexpressão em soro de pacientes com GBM. Dessa forma, foram analisadas a sensibilidade e a especificidade desses potenciais biomarcadores, com resultados promissores. Apesar dos promissores resultados do poder diagnóstico de LINC00565 (97% sensibilidade, 100% especificidade) e LINC00641 (100% sensibilidade, 93,3% especificidade), sua implementação na prática clínica exigiria a padronização de métodos de detecção em biópsia líquida e a definição de pontos de corte validados em estudos coortes multicêntricos. Embora os estudos de Wang et al. e Amer et al. demonstrem resultados promissores, é importante reconhecer suas limitações inerentes ao uso de coortes clínicas. O tamanho amostral reduzido (n=40 em ambos os estudos) limita o poder estatístico e a generalização dos achados.

Logo, conclui-se que urge a necessidade da transposição dos outros vários tipos de lncRNAs que participam de processos celulares importantes e que possuem grande base teórica para análise clínica e de biópsias líquidas, da mesma maneira feita nesses 3 estudos discutidos, porém em coortes maiores e em contextos mais abrangentes e diferenciais de prognósticos, não apenas para identificação (como feita no estudo de Amer et al.), de quimiorresistência (como nos de Wang et al. e Chen et al.) e de agressividade tumoral (como feita por Wang et al.).

6.CONCLUSÃO

Embora MALAT1, HOTAIR, LINC00565 e LINC00641 demonstrem potencial como biomarcadores em biópsia líquida, eles representam apenas uma fração dos mais de 100 lncRNAs com base teórica sólida em estudos com tecidos tumorais que aguardam validação translacional. Neste cenário, a validação destes e de outros lncRNAs em amostras de biópsia líquida é uma etapa crucial para traduzir o conhecimento do tecido tumoral para uma prática clínica menos invasiva.

Não obstante essa limitação, os achados desta revisão já elucidam muitos caminhos para futuros estudos de lncRNAs no contexto de quimiorresistência, diagnóstico e prognóstico de pacientes com glioblastoma, como a identificação de biomarcadores em amostras circulantes, a validação em biofluidos dos lncRNAs já estudados em tecido tumoral, e a confirmação em coortes mais amplas e multicêntricas, com metodologias mais padronizadas.

Desse modo, investigar moléculas intimamente ligadas às vias moleculares cruciais do GBM, como crescimento, proliferação, apoptose e resistência, pode trazer maior assertividade e conforto para os pacientes, que hoje dependem de um método invasivo e arriscado como a biópsia tumoral. De acordo com os achados desta revisão, os RNAs longos não codificantes (lncRNAs), por atuarem como reguladores centrais desses processos celulares, emergem como candidatos ideais para preencher essa lacuna clínica.

7.REFERÊNCIAS

1.BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. Neurociências: desvendando o sistema nervoso. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

- 2.KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. Robbins e Cotran: fundamentos de patologia. São Paulo: Elsevier, 2010.
- 3.MARQUES, C. L. T. Q.; BARRETO, C. L.; MORAIS, V. L. L.; LIMA JÚNIOR, N. F. (org.). Oncologia: uma abordagem multidisciplinar. Recife: Carpe Diem, 2015.
- 4.ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Basic immunology: functions and disorders of the immune system. 6. ed. Philadelphia: Elsevier, 2019.
- 5.WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global cancer burden growing amidst mounting need for services. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Acesso em: set. 2025.
- 6.BRASIL NETO, J. P.; TAKAYANAGUI, O. M. (org.). Tratado de neurologia da Academia Brasileira de Neurologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
- 7.KADARU, M. R. Clinico-pathological study of central nervous system tumors. Indian Journal of Pathology and Oncology, v. 6, n. 3, p. 393-399, 2019.
- 8.INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). GLOBOCAN 2022: Cancer Fact Sheets. Lyon: World Health Organization, 2023. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/fact-sheets-cancers/>. Acesso em: set. 2025.
- 9.WRENSCH, Margaret; MINN, Yukihide; BONDY, Melissa. Epidemiology. In: DEVI, G. (org.). Handbook of Clinical Neurology: Neuro-oncology. The Essentials. Amsterdam: Elsevier, 2016. v. 134, p. 3-16.
- 10.INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/2023>. Acesso em: set. 2025.
- 11.SILVANI, A. et al. Malignant gliomas: early diagnosis and clinical aspects. Neurological Sciences, v. 32, Suppl. 2, p. S207-S208, 2011.
- 12.DEVITA, V. T.; ROSENBERG, S. A.; LAWRENCE, T. S. Cancer: principles & practice of oncology. 12. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2023.
- 13.FLEPISI, B. T.; BALMITH, M. An overview of central nervous system tumours. SciMedicine Journal, v. 3, n. 4, p. 360–386, 2021.
- 14.YANG, K. et al. Glioma targeted therapy: insight into future of molecular approaches. Molecular Cancer, v. 21, n. 1, p. 39, 2022.
- 15.LOUIS, D. N. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. Acta Neuropathologica, v. 114, n. 2, p. 97-109, 2007.

16. SMITH, H. L.; WADHWANI, N.; HORBINSKI, C. Major Features of the 2021 WHO Classification of CNS Tumors. *Neurotherapeutics*, v. 19, n. 6, p. 1691-1704, 2022.
17. LOUIS, D. N. et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology*, v. 23, n. 8, p. 1231-1251, 2021.
18. UNRUH, D. et al. Methylation and transcription patterns are distinct in IDH mutant gliomas compared to other IDH mutant cancers. *Scientific Reports*, v. 9, p. 8946, 2019.
19. DANG, L. et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*, v. 462, p. 739–744, 2009.
20. SCHAFF, L. R.; MELLINGHOFF, I. K. Glioblastoma and Other Primary Brain Malignancies in Adults: A Review. *JAMA*, v. 329, n. 7, p. 574-587, 2023.
21. ISMAILOV, A. et al. Molecular biology of the deadliest cancer - glioblastoma: what do we know?. *Frontiers in Immunology*, v. 16, p. 1530305, 2025.
22. DOGHISH, A. S. et al. Unraveling the role of LncRNAs in glioblastoma progression: insights into signaling pathways and therapeutic potential. *Metabolic Brain Disease*, v. 40, n. 42, p. 1–16, 2025.
23. DEWDNEY, B. et al. From signalling pathways to targeted therapies: unravelling glioblastoma's secrets and harnessing two decades of progress. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 8, p. 400, 2023.
24. GRITSCH, S. et al. Diagnostic, therapeutic, and prognostic implications of the 2021 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system. *Cancer*, v. 128, n. 1, p. 47-58, 2022.
25. CASTELLANI, G. et al. Aptamer-mediated delivery of therapeutic oligonucleotides in glioblastoma. *Translational Oncology*, v. 60, p. 102485, 2025.
26. SIQUEIRA, M. G. *Tratado de Neurocirurgia*. Barueri: Manole, 2016.
27. OSBORN, A. G. et al. The 2021 world health organization classification of tumors of the central nervous system: what neuroradiologists need to know. *American Journal of Neuroradiology*, v. 43, p. 928–937, 2022.
28. AMERICAN CANCER SOCIETY. Key Statistics for Brain and Spinal Cord Tumors. Atlanta: American Cancer Society, 2024. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/types/brain-spinal-cord-tumors-adults/about/key-statistics.html>. Acesso em: set. 2025.
29. WU, L.; QU, X. Cancer biomarker detection: recent achievements and challenges. *Chemical Society Reviews*, v. 44, n. 10, p. 2963-2997, 2015.

- 30.AKRAM, M. E. et al. Serum long non-coding RNAs as potential noninvasive biomarkers for glioblastoma diagnosis, prognosis, and chemoresistance. *Journal of Integrative Neuroscience*, v. 21, n. 4, p. 111, 2022.
- 31.YAN, H. et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *The New England Journal of Medicine*, v. 360, n. 8, p. 765-773, 2009.
- 32.SHANKAR, G. M. et al. Liquid biopsy for brain tumors. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, v. 17, n. 10, p. 943-947, 2017.
- 33.SIRAVEGNA, G. et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 14, p. 531–548, 2017.
- 34.MALHOTRA, S. et al. Liquid Biopsy in Neurological Diseases. *Cells*, v. 12, n. 14, p. 1911, 2023.
- 35.RONVAUX, L. et al. Liquid Biopsy in Glioblastoma. *Cancers*, v. 14, n. 14, p. 3394, 2022.
- 36.WU, X. et al. Exosomal circRNAs as promising liquid biopsy biomarkers for glioma. *Frontiers in Immunology*, v. 14, p. 1039084, 2023.
- 37.KONDO, Y.; SHINJO, K.; KATSUSHIMA, K. Long non-coding RNAs as an epigenetic regulator in human cancers. *Cancer Science*, v. 108, n. 10, p. 1927-1933, 2017.
- 38.SCHLOSSER, K. et al. Assessment of Circulating LncRNAs Under Physiologic and Pathologic Conditions in Humans Reveals Potential Limitations as Biomarkers. *Scientific Reports*, v. 6, p. 36596, 2016.
- 39.SCHMITT, A. M.; CHANG, H. Y. Long Noncoding RNAs in Cancer Pathways. *Cancer Cell*, v. 29, n. 4, p. 452-463, 2016.
- 40.HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000.
- 41.HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.
- 42.JANG, W. et al. LncRNA H19 acts as a ceRNA to promote glioblastoma malignancy by sponging miR-19b-3p and upregulating SERPINE1. *Cancer Cell International*, v. 25, n. 1, 2025.
- 43.WANG, Z. et al. Comprehensive In Silico Analysis of a Novel Serum Exosome-Derived Competitive Endogenous RNA Network for Constructing a Prognostic Model for Glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 553594, 2021.

44. POKORNÁ, M. et al. lncRNA Biomarkers of Glioblastoma Multiforme. *Biomedicines*, v. 12, n. 5, p. 932, 2024.
45. CHEN, W. et al. MALAT1 is a prognostic factor in glioblastoma multiforme and induces chemoresistance to temozolomide through suppressing miR-203 and promoting thymidylate synthase expression. *Oncotarget*, v. 8, n. 14, p. 22783-22799, 2017.
46. WANG, X. et al. Serum-derived extracellular vesicles facilitate temozolomide resistance in glioblastoma through a HOTAIR-dependent mechanism. *Cell Death & Disease*, v. 13, p. 344, 2022.
47. AMER, R. G. et al. Prognostic utility of lncRNAs (LINC00565 and LINC00641) as molecular markers in glioblastoma multiforme (GBM). *Journal of Neuro-Oncology*, v. 158, n. 3, p. 435-444, 2022.
48. DENG, X. et al. Ailanthone disturbs cross-talk between cancer cells and tumor-associated macrophages via HIF1- α /LINC01956/FUS/ β -catenin signaling pathway in glioblastoma. *Cancer Cell International*, v. 24, p. 397, 2024.