

## MicroRNAs: Um Novo Paradigma no Tratamento e Diagnóstico da Insuficiência Cardíaca?

*MicroRNAs: A New Paradigm in the Treatment and Diagnosis of Heart Failure?*

Vagner Oliveira-Carvalho, Vitor Oliveira Carvalho, Miguel Morita Silva, Guilherme Veiga Guimarães, Edimar Alcides Bocchi

Instituto do Coração - InCor - HCFMUSP, SP, São Paulo, Brasil

### Resumo

MicroRNAs (miRNAs) são um grupo recém-descoberto de pequenos RNAs, não codificantes, que representam uma das áreas mais estimulantes da ciência médica moderna por modularem uma enorme e complexa rede regulatória da expressão dos genes. Recentemente, linhas de evidências sugerem que os miRNAs desempenham um papel crucial na patogênese da insuficiência cardíaca. Alguns miRNAs altamente expressos no coração como o miR-1, miR-133 e miR-208 estão fortemente associados ao desenvolvimento da hipertrofia cardíaca, enquanto o exato papel de miR-21 no sistema cardiovascular permanece controverso. Os níveis séricos de miRNAs circulantes como o miR-423-5p estão sendo avaliados como potenciais biomarcadores no diagnóstico e prognóstico da insuficiência cardíaca. Por outro lado, a manipulação dos níveis de miRNAs usando técnicas como os mimetizadores de miRNAs (miRmimics) e miRNAs antagonistas (antagomiRs) está tornando cada vez mais evidente o enorme potencial dos miRNAs como promissoras estratégias terapêuticas na insuficiência cardíaca.

### Introdução

A síndrome da Insuficiência Cardíaca (IC) é considerada a via final comum de toda cardiopatia e uma importante causa de morte<sup>1,2</sup>. Essa síndrome possui uma alarmante taxa de mortalidade de aproximadamente 50% em cinco anos, o que pode superar muitos tipos de câncer<sup>3</sup>. No Brasil, IC representa a maior causa de internação hospitalar por doença cardiovascular, e quando analisadas todas as causas de óbito, representa uma taxa de mortalidade de 6,3%<sup>4,5</sup>.

### Palavras-chave

MicroRNAs / genética, microRNAs / uso diagnóstico, microRNAs / antagonistas e inibidores, insuficiência cardíaca, cardiomegalia.

Correspondência: Vagner Oliveira Carvalho •

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44 - Laboratório de Insuficiência Cardíaca e Transplante - InCor - Bloco 1, 1º Andar - 05403-900, São Paulo, SP, Brasil  
E-mail: vagnercarvalho@usp.br

Artigo recebido em 31/08/11; revisado recebido em 25/10/11; aceito em 10/11/2011.

A recente descoberta dos microRNAs(miRNAs) os tem colocado entre as áreas mais estimulantes da ciência médica moderna. Os miRNAs são um grupo de pequenos RNAs, não codificadores de proteínas, com aproximadamente 19-25 nucleotídeos de extensão. Diferindo da ampla gama de RNAs codificados pelo genoma humano, essa variedade de RNA tem se destacado por sua singular habilidade de modular uma enorme e complexa rede regulatória da expressão dos genes<sup>6</sup>.

Recentemente, o papel biológico dos miRNAs no sistema cardiovascular de mamíferos tornou-se um campo de pesquisa de rápida evolução. Vários estudos têm demonstrado o papel crucial dos miRNAs não só no desenvolvimento cardiovascular embrionário, mas também na doença cardiovascular.

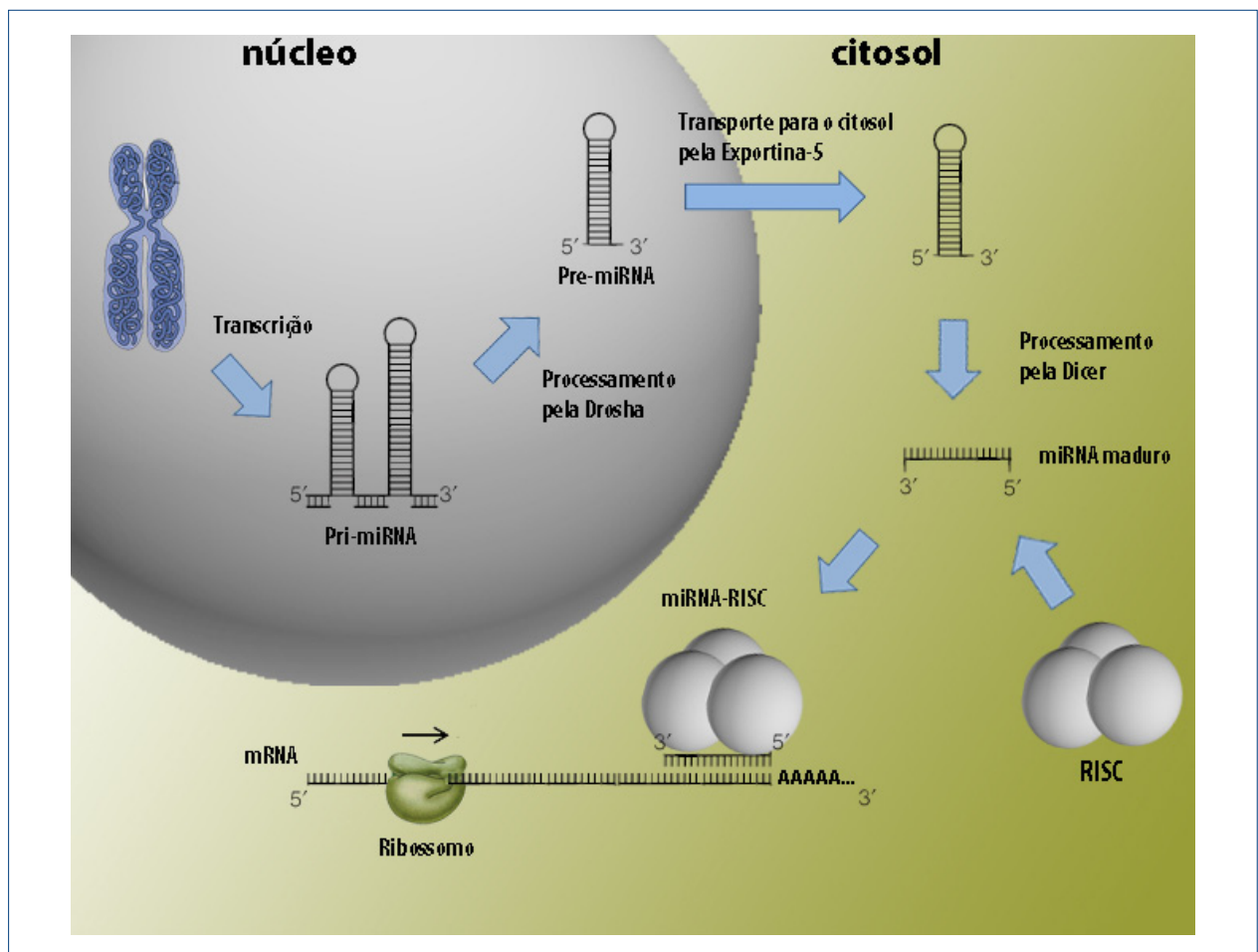
### Biologia dos microRNAs

O genoma humano codifica uma ampla gama de tipos de RNAs, em que a função da maior parte dessas moléculas foi apenas parcialmente esclarecida ou ainda permanece desconhecida. Juntamente com outras variedades mais comuns de RNA, como o RNAm (RNA mensageiro ou codificador de proteínas) e aqueles com funções estruturais, tais como o RNAt (RNA de transferência) e o RNAr (RNA ribossomal), estão os RNAs não codificadores de proteínas, entre eles os miRNAs.

Sabe-se que os miRNAs geralmente são sintetizados a partir de genes específicos de miRNA ou de determinadas regiões gênicas que não estão associadas à produção de proteínas (introns)<sup>7</sup>. O processo de maturação dos miRNAs envolve uma complexa via metabólica que se inicia no núcleo e se estende até o citoplasma celular (fig. 1)<sup>8</sup>.

Os miRNAs exercem seus efeitos regulatórios através da ligação de seus nucleotídeos aos do RNA mensageiro (RNAm)-alvo em um processo chamado de pareamento. Essa ligação impossibilita que os ribossomos consigam traduzir a informação genética contida no RNAm, acarretando na diminuição da síntese proteica do gene-alvo sem impactar nos níveis correspondentes de RNAm<sup>6</sup>.

A interação miRNA-RNAm, entretanto, não precisa ser necessariamente perfeita, ou seja, todos os nucleotídeos do miRNA ligados ao RNAm. Normalmente em mamíferos essa ligação é imperfeita. Dessa forma, a não obrigatoriedade de interação completa somado ao fato de os miRNAs possuírem sequências pequenas, um único miRNA



**Fig. 1** – Biogênese e mecanismo de ação dos microRNAs em células de mamíferos. No núcleo, o primeiro passo para a maturação do miRNA é dado pela enzima RNA polimerase II ao transcrever uma longa fita de miRNA primário (pri-miRNA) a partir de um determinado gene<sup>45</sup>. O pri-miRNA resultante é bem longo, podendo conter de uma a seis regiões precursoras (pre-miRNAs) que irão formar miRNAs distintos<sup>6,46</sup>. O complexo enzimático chamado Drosha irá clivar o pri-miRNA liberando os pre-miRNAs no núcleo celular que serão em seguida exportados para o citoplasma<sup>47,48</sup>. No citoplasma, o pre-miRNA é clivado pela enzima Dicer<sup>49,50</sup>. Como resultado, forma-se um RNA de dupla fita com aproximadamente 22 nucleotídeos. As duas fitas são então separadas, porém, apenas uma delas irá potencialmente atuar como um miRNA funcional, enquanto a outra geralmente é degradada<sup>51</sup>. A fita de miRNA, agora madura, é incorporada a um conjunto enzimático denominado RISC (RNA-induced silencing complex). O complexo miRNA-RISC se liga ao mRNA alvo de maneira sequência-específica, induzindo sua clivagem ou impossibilitando a ligação dos ribossomos<sup>52</sup>. Esse processo é conhecido como silenciamento gênico e acarreta em depleção dos níveis proteicos.

pode regular centenas de genes-alvo distintos, além de cooperarem no controle de um único gene-alvo<sup>8,9</sup>.

O envolvimento dos miRNAs no controle regulatório da expressão gênica e a associação a diferentes funções tornam evidente que os miRNAs podem alterar a progressão de diversas doenças.

### MicroRNAs e o sistema cardiovascular

Embora as funções biológicas dos miRNAs não estejam totalmente compreendidas, estudos mostraram que alguns miRNAs estão presentes especificamente em determinados tipos de tecidos ou células, incluindo o coração<sup>10,11</sup>. Por outro lado, miRNAs cuja expressão não são restritas ao coração podem ter um importante papel cardioespecífico<sup>12</sup>. Com isso, novos miRNAs estão sendo descobertos em outras células que compõem o sistema

cardiovascular, tais como fibroblastos, células endoteliais e células musculares lisas, nos quais não podem ser ignoradas quando se estuda a fisiologia do sistema cardiovascular ou sua resposta ao estresse.

Até o momento, parece haver aproximadamente 150-200 miRNAs expressados no sistema cardiovascular. Muitos desses miRNAs são dinamicamente regulados em resposta ao estresse cardíaco agudo, e em alguns casos, em longo prazo durante a resposta compensatória do coração a uma lesão crônica ou sobrecarga hemodinâmica<sup>13,14</sup>. Assim, há evidências crescentes de que a expressão de miRNAs é uma parte importante do mecanismo de resposta ao estresse agudo do coração, e contribui tanto para a homeostase cardíaca quanto para a doença.

Alguns miRNAs como miR-128, miR-302, miR-367 e miR-499 são potencialmente cardio específicos, porém,

mais estudos são necessários para confirmação. Somente o miRNA miR-208 é conhecido como sendo específico e desempenha um papel importante na manutenção do desenvolvimento e função cardíaca<sup>15,16</sup>. No entanto, estudos recentes demonstraram que em eventos como lesões ao longo do coração esse miRNA pode extravasar para a corrente sanguínea e ser detectado em sangue periférico. Assim, seus níveis de expressão podem estar ligados ao diagnóstico e prognóstico de doenças<sup>17,18</sup>.

No músculo esquelético, miR-1, miR-133a, miR-133b e miR-206, juntos, correspondem por aproximadamente 25% de toda a expressão de miRNAs e são muitas vezes referidos como miomiRs<sup>19</sup>. Os miRNAs miR-1, miR-133a e miR-133b são altamente expressados no músculo esquelético e no coração, enquanto o miR-206 é especificamente expresso no músculo esquelético. Todos os quatro miRNAs musculares são induzidos durante a diferenciação do músculo, e desempenham um papel crítico na regulação desse processo<sup>20</sup>.

### MicroRNAs na hipertrofia e insuficiência cardíaca

A hipertrofia cardíaca é também acompanhada de uma troca do programa genético que leva à reativação de genes cardíacos normalmente expressos no coração de fetos durante o desenvolvimento embrionário<sup>21</sup>. Em 2007, uma impressionante semelhança foi encontrada entre o padrão de expressão de miRNAs em corações de indivíduos adultos com insuficiência cardíaca e corações de fetos com 12-14 semanas de gestação. Cerca de mais de 80% dos miRNAs analisados foram encontrados regulados similarmente em ambos os corações. As mudanças mais expressivas foram associadas ao aumento da expressão dos miRNAs miR-21, miR-29b, miR-129, miR-210, miR-211, miR-212, miR-423, e redução da expressão de miR-30, miR-182 e miR-526<sup>22</sup>.

A desregulação de outros miRNAs, entretanto, também vem sendo associada à insuficiência cardíaca (tab. 1). Em um modelo experimental de rato em que foi aplicada uma sobrecarga de pressão no coração, uma das primeiras modificações observadas foi a redução da expressão de miR-1. Essa alteração do nível de expressão do miR-1 precedeu o aumento da massa cardíaca e disfunção contrátil<sup>13</sup>. Esse resultado sugere que a redução no nível de expressão de miR-1 pode ser uma causa em vez de um efeito da patogênese subjacente. Dessa forma, tanto os dados *in vitro*<sup>23</sup> quanto *in vivo*<sup>24</sup> sugerem que a redução da expressão de miR-1 é necessária para o aumento da massa celular.

Além de miR-1, outro miRNA muscular específico, o miR-133, também tem sua expressão reduzida durante a hipertrofia cardíaca<sup>24-26</sup>. Camundongos com expressão de miR-133 reduzida manifestaram cardiomiopatia, insuficiência cardíaca e uma proliferação anormal dos cardiomiócitos<sup>27</sup>. Em estudo recente, a expressão de miR-133 foi induzida em um modelo de rato submetido a estímulo hipertrófico agudo. Embora o peso do coração não tenha sido normalizado, outros aspectos da hipertrofia, como apoptose e fibrose foram restaurados aos níveis basais<sup>14</sup>.

O miR-21 é um dos poucos miRNAs que demonstram um padrão regular de super expressão na insuficiência cardíaca. Da mesma forma, o miR-21 é também altamente expresso em diversos tipos de câncer e linhagens celulares, o que sugere que esse miRNA possui um comportamento comum em resposta ao estresse e ao crescimento patológico de células. No entanto, o papel exato de miR-21 no desenvolvimento da hipertrofia cardíaca permanece controverso<sup>28</sup>.

Apesar de os padrões de expressão de alguns miRNAs já serem conhecidos e associados a insuficiência cardíaca, determinados miRNAs podem estar se expressando diferencialmente em certos tipos da doença. Em estudo conduzido por Ikeda e cols.<sup>29</sup> foram analisados os padrões de expressão de miRNA em amostras de miocárdio de pacientes com cardiomiopatia isquêmica, cardiomiopatia idiopática e estenose aórtica. Interessantemente, seus resultados demonstram que os subconjuntos de miRNAs são regulados diferencialmente em cada uma das etiologias<sup>29</sup>. Resultados semelhantes foram também encontrados por Sucharov e cols.<sup>30</sup>. Esses dados mostram que diferenças nos padrões de expressão dos miRNAs podem ser clinicamente importantes se usadas com propósitos diagnóstico e/ou prognósticos.

Por outro lado, não somente os subconjuntos de miRNAs têm influência sobre o fenótipo: alguns miRNAs específicos parecem ser chaves regulatórias. Em 2006, van Rooij e cols.<sup>26</sup> revelaram que o aumento da expressão de miR-195 no miocárdio de camundongos foi suficiente para induzir um crescimento cardíaco patológico e insuficiência cardíaca dentro de várias semanas após o nascimento. Além disso, enquanto nenhum fenótipo foi obtido pelo aumento da expressão de miR-214, miR-24 resultou em letalidade embrionária. Este estudo indica que alguns miRNAs específicos podem desempenhar papéis determinantes no programa de hipertrofia cardíaca<sup>26</sup>.

Os medicamentos administrados ao paciente também devem ser levados em conta. Ao utilizar o peixe zebra como modelo, Sanchez-Simon e cols.<sup>31</sup> demonstraram que a morfina regula a diferenciação de neurônios dopaminérgicos por meio da redução dos níveis de expressão de miR-133b<sup>31</sup>. Apesar de o peixe zebra ser evolutivamente distante do homem, esse dado indica que os medicamentos podem influenciar a expressão dos miRNAs.

### MicroRNAs na complementação diagnóstica e prognóstica da insuficiência cardíaca

Em razão de muitos miRNAs serem tecido específicos, a maioria dos estudos clínicos tem se baseado na mensuração dos níveis de expressão de miRNAs em amostras do tecido de origem. Entretanto, recentemente alguns miRNAs também foram encontrados na corrente sanguínea e são denominados como miRNAs circulantes ou c-miRNA. Os mecanismos envolvidos na liberação dos miRNAs no sangue permanecem não bem compreendidos. O fato de que esses c-miRNAs podem ser detectados em sangue periférico os tornam potencialmente utilizáveis

**Tabela 1 – Perfil de expressão de miRNAs na insuficiência cardíaca humana e respectivas funções no sistema cardiovascular (IC)**

miRNA	Expressão na IC	Função no sistema cardiovascular	Referências
1	Reduzida	Desenvolvimento e função do músculo cardíaco e esquelético	13,23,24
10a,b	Reduzida	Envolvido na inflamação vascular	29,30,53
15a,b	Aumentada	Indução de apoptose; regula a repressão da mitose pós-natal dos cardiomiócitos.	12,26,29,30,54,55
16	Aumentada	Indução de apoptose; regula a repressão da mitose pós-natal dos cardiomiócitos.	12,26,30,43,54,55
19a,b	Reduzida	--	12
21	Aumentada	Induzido nas células endoteliais pelo shear stress; modula a apoptose e a atividade de eNOS; regula a função das células do músculo liso vascular	22,43,56,57
23a,b	Aumentada	Restringe a formação da válvula cardíaca; envolvido na regulação da hipertrofia cardíaca	12,30,26,43,58,59
24	Aumentada	Regula a vascularização após infarto do miocárdio; Inibi a apoptose em cardiomiócitos	12,26,43,60
27a,b	Aumentada	Regula a expressão do gene da beta miosina; Induz a hipertrofia cardíaca e disfunção em camundongos	12,43,61,62
34a,b	Aumentada	Induz senescência das células progenitoras endoteliais e impede a sua angiogênese	22,63
92	Reduzida	Inibidor da angiogênese	30,64
100	Aumentada	Envolvidos na regulação dos receptores beta-adrenérgicos	12,30
101a,b	Reduzida	A diminuição da expressão de miR-101 nas células endoteliais promove a formação de vasos	12,65
103	Aumentada	Induzido em resposta à hipóxia	12,43,66
125a,b	Aumentada	Regula a expressão da endotelina-1 nas células endoteliais	12,22,29,30,26,43,67
130a	Aumentada	Controle translacional da expressão de FOG-2 nos cardiomiócitos	22,43,68
132	Aumentada	Envolvido no programa de angiogênese	22,69
133	Reduzida	Desenvolvimento e função do músculo cardíaco e esquelético; Regulação dos receptores beta-adrenérgicos	24,30
139	Reduzida	--	30
143	Aumentada	Promovem a diferenciação e reprimem a proliferação de células musculares lisas	43,70
145	Aumentada	Necessário para a reprogramação de fibroblastos adultos em células musculares lisas e suficiente para induzir diferenciação de células-tronco multipotentes em músculo liso vascular.	12,29,70
150	Reduzida	Crucial para a diferenciação das células endoteliais	30,60
181	Aumentada	Regulação da sensibilidade das células T aos antígenos	12,29,30,71
195	Aumentada	Envolvido na hipertrofia dos miócitos e cardiomiopatia dilatada	12,30,26,43
199a	Aumentada	Essencial para a manutenção do tamanho dos cardiomiócitos	30,26,44,72
214	Aumentada	--	12,26,29
221	Reduzida	Regula a disfunção endotelial; Envolvido na angiogênese; proliferação das células do músculo liso vascular e hiperplasia; envolvido na inflamação vascular	30,73-76
222	Reduzida	Envolvido na angiogênese; proliferação das células do músculo liso vascular e hiperplasia; envolvido na inflamação vascular	12,30,74,75,76
320	Aumentada	Envolvido na regulação da lesão da isquemia cardíaca	12,22,77
330	Aumentada	--	22
342	Aumentada	--	12,29,30
365	Aumentada	--	22
422b	Reduzida	--	12,30
423	Aumentada	--	22
424	Aumentada	--	12,26,30,43
451	Reduzida	MiR-144/451 juntos conferem proteção contra a morte dos cardiomiócitos induzida por isquemia/reperfusão	12,78
483	Reduzida	--	30
486	Reduzida	--	30
497	Aumentada	--	12,26,30,43
638	Aumentada	--	43

para testes rápidos e fáceis, auxiliando o diagnóstico ou guiando terapias.

O primeiro estudo em camundongos mostrou que o nível plasmático de miR-208 (Mirna cardio específico) está relacionado com a lesão do miocárdio, sendo detectável após a indução dessa lesão<sup>18</sup>. Em humanos, os miRNAs miR-1<sup>32,33</sup>, miR-133<sup>34</sup>, miR-208a<sup>35</sup> e miR-499<sup>36</sup> foram propostos como bons biomarcadores de infarto agudo do miocárdio, apresentando níveis plasmáticos significativamente mais elevados quando comparados a pacientes sem a condição.

Cheng e cols.<sup>32</sup> relataram que os perfis de miRNAs no miocárdio são expressos diferencialmente na dependência da etiologia da insuficiência cardíaca, sugerindo que cada forma etiológica é caracterizada por um perfil de expressão de miRNA distinto<sup>32</sup>. Porém, a necessidade de um procedimento invasivo para obtenção de amostras do miocárdio torna a aplicação clínica dessa abordagem muito limitada. No entanto, uma recente evidência demonstrou que o c-miRNA miR-423-5p apresenta uma expressão aumentada durante a insuficiência cardíaca e pode ser usado como um biomarcador<sup>37</sup>.

Em 2009, Matkovich e cols. avaliaram o perfil de expressão de miRNAs em pacientes com insuficiência cardíaca antes e depois de tratamento com dispositivos de assistência ventricular esquerda. Curiosamente, 71,4% dos miRNAs diferencialmente regulados na insuficiência cardíaca foram normalizados após o tratamento<sup>38</sup>. Esses resultados sugerem que os miRNAs podem servir como marcadores de recuperação do miocárdio em pacientes com insuficiência cardíaca avançada.

### MicroRNAs no tratamento da insuficiência cardíaca

Recentemente, duas estratégias terapêuticas envolvendo o conhecimento acerca dos miRNAs têm sido estudadas: o uso de antagomirs e mimetizadores de miRNA (*miRmimics*). Essas estratégias se baseiam na normalização do nível tecidual de miRNAs específicos, silenciando aqueles que se apresentam super expressados ou repondo aqueles que apresentam um déficit na sua expressão em processos patológicos (fig. 2).

Em um estado patológico em que determinados miRNAs estejam super expressados, a primeira coisa que se pensa é como intervir no efeito causado pelo aumento excessivo da expressão desses miRNAs. Para esse propósito foi desenvolvido uma classe de antimiRNAs chamada antagomirs.

Os antagomirs são pequenas sequências nucleotídicas antagônicas, de fitas simples, sintetizadas artificialmente para ser perfeitamente complementares a um miRNA maduro específico. Quando injetados sistêmica ou localmente, os antagomirs interagem com os miRNAs no citoplasma e hibridizam especificamente com o miRNA maduro alvo dificultando a ligação do miRNA com o seu respectivo RNAm. Dessa forma, os antagomirs atuam como inibidores competitivos de miRNAs e levam a uma diminuição do efeito causado pelo aumento excessivo da expressão de determinados miRNAs<sup>39</sup>.

Longe de ser utópica, essa estratégia terapêutica já vem sendo estudada por diversos pesquisadores. Em estudo

pioneiro, Thum e cols.<sup>40</sup> induziram ratos à hipertrofia cardíaca por meio de sobrecarga de pressão. Após três semanas foi administrado um antagomir desenvolvido para inibir funcionalmente o miR-21 (miRNAs superexpressado em fibroblastos cardíacos durante a hipertrofia). Como resultado, foi observado que os ratos apresentaram uma regressão significativa da hipertrofia cardíaca e fibrose, além da atenuação do comprometimento da função cardíaca<sup>40</sup>. Outra abordagem de sucesso foi publicada em 2011 por Montgomery e cols.<sup>41</sup> em que o antimiR-208a foi administrado sistemicamente durante a hipertensão induzida por insuficiência cardíaca em ratos hipertensos levando a um potente silenciamento de miR-208a no coração. A inibição terapêutica de miR-208a evitou a alteração patológica da miosina e remodelamento cardíaco, melhorando a função cardíaca e a sobrevida<sup>41</sup>.

Esses resultados demonstram que o uso de antagomirs pode ser útil na prevenção e/ou reversão da hipertrofia cardíaca. No entanto, a maioria dos estudos até a data concentrou-se em “silenciar” apenas miRNAs isolados. Porém, tendo em vista que mais de um miRNA pode estar envolvido no processo patológico, provavelmente diversos miRNAs terão de ser silenciados para a obtenção de uma terapia eficaz.

Assim como o aumento da expressão de alguns miRNAs pode estar relacionado ao desencadeamento de processos patogênicos, a diminuição da expressão de miRNAs específicos também pode levar a um estado patológico.

A intervenção a ser feita para normalizar o nível de expressão destes miRNAs, no entanto, é baseada na administração de moléculas que irão mimetizar funcionalmente os miRNAs naturais.

Os mimetizadores de miRNA (*miRmimics*) são sequências nucleotídicas artificiais curtas, dupla fitas, que se assemelham aos precursores de miRNA (pre-miRNA). Ao serem introduzidos nas células os mimetizadores de miRNA são reconhecidos pela maquinaria da biogênese dos miRNA e processados pela enzima Dicer, sendo em seguida incorporados ao complexo enzimático RISC. Dessa forma, os mimetizadores irão funcionar como uma reposição dos miRNAs pouco expressos regulando o mRNA-alvo como os miRNAs endógenos<sup>42</sup>.

A reposição de miRNAs, no entanto, está sujeita a um obstáculo adicional: a especificidade. Os mimetizadores de miRNA devem atuar apenas sobre o tecido alvo. De outra forma, como no caso de serem administrados sistemicamente, poderiam resultar em um ou mais miRNAs exercendo função regulatória em tecidos em que esses miRNAs normalmente não são expressos. Essa regulação errônea provavelmente levaria ao desencadeamento de efeitos colaterais.

Para superar esse obstáculo, são necessários sistemas de administração mais complexos e precisos. Para tal, o emprego de vetores virais vem sendo promissor. Esses vetores são produzidos pela bioengenharia a partir de vírus não patogênicos pertencentes à família Parvoviridae e que possuem uma alta afinidade pelo miocárdio<sup>43</sup>.

Assim como os antagomirs, a eficácia terapêutica dos mimetizadores de miRNA também vem sendo estudada.

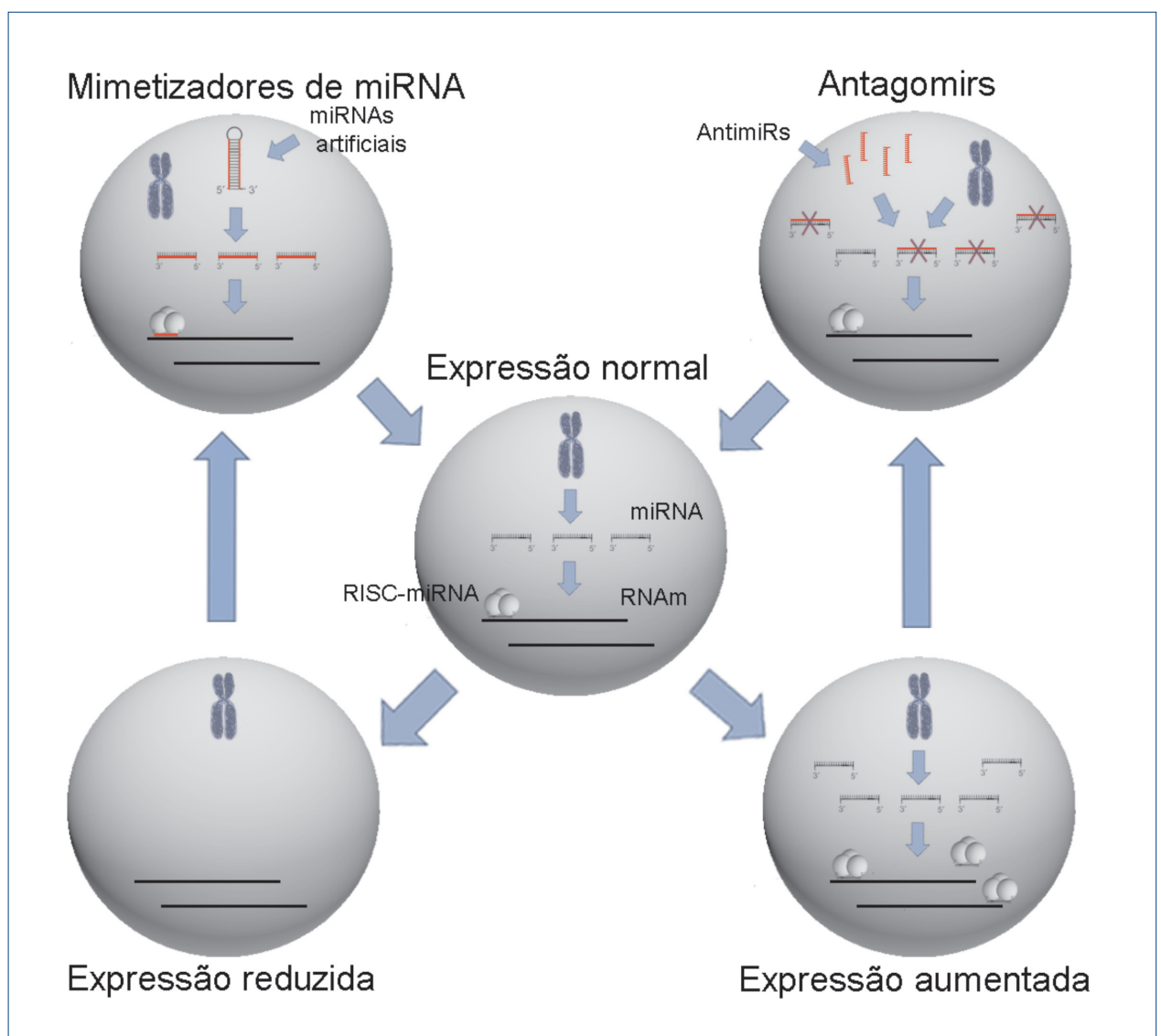


Fig. 2 – Resumo esquemático de duas estratégias terapêuticas (antagomirs e RNAi) envolvendo o conhecimento acerca dos miRNAs.

Em estudo conduzido por Suckau e cols., um vetor viral otimizado com mimetizadores foi utilizado com sucesso em ratos com pressão de sobrecarga. Como resultados, os autores observaram que houve uma normalização da dilatação cardíaca e uma redução significativa da hipertrofia cardíaca, diâmetro dos cardiomiócitos e fibrose cardíaca<sup>44</sup>.

## Conclusão

A compreensão da biologia dos miRNAs e o seu papel nos processos patogênicos é uma nova e estimulante fronteira na medicina cardiovascular. Está cada vez mais evidente o potencial dos miRNAs como novas ferramentas no diagnóstico e prognóstico, assim como promissoras estratégias terapêuticas em muitas subáreas da cardiologia, incluindo a insuficiência cardíaca. Entretanto, antes de se tornarem uma realidade, muitos estudos ainda são necessários. Ultrapassado os

obstáculos, as terapêuticas baseadas em miRNA podem tornar-se parte do arsenal do cardiologista no tratamento, diagnóstico e prognóstico da insuficiência cardíaca.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

### Referências

1. Bocchi EA, Carvalho VO, Guimaraes GV. Inverse correlation between testosterone and ventricle ejection fraction, hemodynamics and exercise capacity in heart failure patients with erectile dysfunction. *Int Braz J Urol.* 2008;34(3):302-10.
2. Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure. *Heart Fail Rev.* 2000;5(2):167-73.
3. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, Capewell S, McMurray JJ. More 'malignant' than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001;3(3):315-22.
4. Bocchi EA, Guimarães G, Tarasoutshi F, Spina G, Mangini S, Bacal F. Cardiomyopathy, adult valve disease and heart failure in South America. *Heart.* 2009;95(3):181-9.
5. Bocchi EA, Braga FGM, Ayub-Ferreira SM, Rohde LEP, Oliveira WA, Almeida DR, et al. / Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica. *Arq Bras Cardiol.* 2009;93(1 supl. 1):3-70.
6. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature.* 2004;431(7006):350-5.
7. Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res.* 2004;14(10A):1902-10.
8. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell.* 2005;120(1):15-20.
9. Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, et al. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell.* 2006;126(6):1203-17.
10. Beuvink I, Kolb FA, Budach W, Garnier A, Lange J, Natt F, et al. A novel microarray approach reveals new tissue-specific signatures of known and predicted mammalian microRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(7):e52.
11. Kloosterman WP, Plasterk RH. The diverse functions of microRNAs in animal development and disease. *Dev Cell.* 2006;11(4):441-50.
12. Townley-Tilson WH, Callis TE, Wang D. MicroRNAs 1, 133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development, function, and disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42(8):1252-5.
13. Sayed D, Hong C, Chen IY, Lypowy J, Abdellatif M. MicroRNAs play an essential role in the development of cardiac hypertrophy. *Circ Res.* 2007;100(3):416-24.
14. Matkovich SJ, Wang W, Tu Y, Eschenbacher WH, Dorn LE, Condorelli G, et al. MicroRNA-133a protects against myocardial fibrosis and modulates electrical repolarization without affecting hypertrophy in pressure-overloaded adult hearts. *Circ Res.* 2010;106(1):166-75.
15. Kloosterman WP, Steiner FA, Berezikov E, de Bruijn E, van de Belt J, Verheul M, et al. Cloning and expression of new microRNAs from zebrafish. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(9):2558-69.
16. Callis TE, Pandya K, Seok HY, Tang RH, Tatsuguchi M, Huang ZP, et al. MicroRNA-208a is a regulator of cardiac hypertrophy and conduction in mice. *J Clin Invest.* 2009;119(9):2772-86.
17. Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J.* 2010;31(6):659-66.
18. Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem.* 2009;55(11):1944-9.
19. McCarthy JJ, Esser KA, Peterson CA, Dupont-Versteegden EE. Evidence of MyomiR network regulation of beta-myosin heavy chain gene expression during skeletal muscle atrophy. *Physiol Genomics.* 2009;39(3):219-26.
20. Kim HK, Lee YS, Sivaprasad U, Malhotra A, Dutta A. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. *J Cell Biol.* 2006;174(5):677-87.
21. McKinsey TA, Olson EN. Toward transcriptional therapies for the failing heart: chemical screens to modulate genes. *J Clin Invest.* 2005;115(3):538-46.
22. Thum T, Galuppo P, Wolf C, Fiedler J, Kneitz S, van Laake LW, et al. microRNAs in the human heart: a clue to fetal gene reprogramming in heart failure. *Circulation.* 2007;116(3):258-67.
23. Elia L, Contu R, Quintavalle M, Varrone F, Chimenti C, Russo MA, et al. Reciprocal regulation of microRNA-1 and insulin-like growth factor-1 signal transduction cascade in cardiac and skeletal muscle in physiological and pathological conditions. *Circulation.* 2009;120(23):2377-85.
24. Carè A, Catalucci D, Felicetti F, Bonci D, Addario A, Gallo P, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 2007;13(5):613-8.
25. Cheng Y, Ji R, Yue J, Yang J, Liu X, Chen H, et al. MicroRNAs are aberrantly expressed in hypertrophic heart: do they play a role in cardiac hypertrophy? *Am J Pathol.* 2007;170(6):1831-40.
26. van Rooij E, Sutherland LB, Liu N, Williams AH, McAnally J, Gerard RD, et al. A signature pattern of stress-responsive microRNAs that can evoke cardiac hypertrophy and heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(48):18255-60.
27. Liu N, Bezprozvannaya S, Williams AH, Qi X, Richardson JA, Bassel-Duby R, et al. microRNA-133a regulates cardiomyocyte proliferation and suppresses smooth muscle gene expression in the heart. *Genes Dev.* 2008;22(23):3242-54.
28. da Costa Martins PA, De Windt LJ. miR-21: a miRaculous Socratic paradox. *Cardiovasc Res.* 2010;87(3):397-400.
29. Ikeda S, Kong SW, Lu J, Bisping E, Zhang H, Allen PD, et al. Altered microRNA expression in human heart disease. *Physiol Genomics.* 2007;31(3):367-73.
30. Sucharov C, Bristow MR, Port JD. miRNA expression in the failing human heart: functional correlates. *J Mol Cell Cardiol.* 2008;45(2):185-92.
31. Sanchez-Simon FM, Zhang XX, Loh HH, Law PY, Rodriguez RE. Morphine regulates dopaminergic neuron differentiation via miR-133b. *Mol Pharmacol.* 2010;78(5):935-42.
32. Cheng Y, Tan N, Yang J, Liu X, Cao X, He P, et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond).* 2010;119(2):87-95.
33. Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391(1):73-7.
34. D'Alessandra Y, Devanna P, Limana F, Straino S, Di Carlo A, Brambilla PG, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2010;31(22):2765-73.
35. Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans. *Eur Heart J.* 2010;31(6):659-66.
36. Adachi T, Nakanishi M, Otsuka Y, Nishimura K, Hirokawa G, Goto Y, et al. Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction. *Clin Chem.* 2010;56(7):1183-5.

37. Tijsen AJ, Creemers EE, Moerland PD, de Windt LJ, van der Wal AC, Kok WE, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res*. 2010;106(6):1035-9.
38. Matkovich SJ, Van Booven DJ, Youker KA, Torre-Amione G, Diwan A, Eschenbacher WH, et al. Reciprocal regulation of myocardial microRNAs and messenger RNA in human cardiomyopathy and reversal of the microRNA signature by biomechanical support. *Circulation*. 2009;119(9):1263-71.
39. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature*. 2005;438(7068):685-9.
40. Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature*. 2008;456(7224):980-4.
41. Montgomery RL, Hullinger TG, Semus HM, Dickinson BA, Seto AG, Lynch JM, et al. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. *Circulation*. 2011;124(14):1537-47.
42. van Rooij E, Sutherland LB, Qi X, Richardson JA, Hill J, Olson EN. Control of stress-dependent cardiac growth and gene expression by a microRNA. *Science*. 2007;316(5824):575-9.
43. Gregorevic P, Blankinship MJ, Allen JM, Crawford RW, Meuse L, Miller DG, et al. Systemic delivery of genes to striated muscles using adeno-associated viral vectors. *Nat Med*. 2004;10(8):828-34.
44. Suckau L, Fechner H, Chemaly E, Krohn S, Hadri L, Kocksämper J, et al. Long-term cardiac-targeted RNA interference for the treatment of heart failure restores cardiac function and reduces pathological hypertrophy. *Circulation*. 2009;119(9):1241-52.
45. Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J*. 2004;23(20):4051-60.
46. Shruti K, Shrey K, Vibha R. MicroRNAs: tiny sequences with enormous potential. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;407(3):445-9.
47. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004;303(5654):95-8.
48. Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*. 2003;17(24):3011-6.
49. Hutvagner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint E, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. *Science*. 2001;293(5531):834-8.
50. Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2006;71:59-66.
51. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*. 2003;115(2):199-208.
52. Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, Parker R. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes Dev*. 2006;20(5):515-24.
53. Fang Y, Shi C, Manduchi E, Civelek M, Davies PF. MicroRNA-10a regulation of proinflammatory phenotype in athero-susceptible endothelium in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(30):13450-5.
54. Porrello ER, Johnson BA, Aurora AB, Simpson E, Nam YJ, Matkovich SJ, et al. MiR-15 family regulates postnatal mitotic arrest of cardiomyocytes. *Circ Res*. 2011;109(6):670-9.
55. Cimmino A, Calin GA, Fabbri M, Iorio MV, Ferracin M, Shimizu M, et al. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(39):13944-9.
56. Weber M, Baker MB, Moore JP, Searles CD. MiR-21 is induced in endothelial cells by shear stress and modulates apoptosis and eNOS activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393(4):643-8.
57. Wang M, Li W, Chang GQ, Ye CS, Ou JS, Li XX, et al. MicroRNA-21 regulates vascular smooth muscle cell function via targeting tropomyosin 1 in arteriosclerosis obliterans of lower extremities. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31(9):2044-53.
58. Lagendijk AK, Goumans MJ, Burkhard SB, Bakkers J. MicroRNA-23 restricts cardiac valve formation by inhibiting Has2 and extracellular hyaluronic acid production. *Circ Res*. 2011;109(6):649-57.
59. Lin Z, Murtaza I, Wang K, Jiao J, Gao J, Li PF. miR-23a functions downstream of NFATc3 to regulate cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(29):12103-8.
60. Luo Z, Xiao Q, Wang W, Xu Q. Differentiation of human embryonic stem cells towards the endothelial lineage involves microRNAs. *Heart*. 2011;97(20):e7.
61. Nishi H, Ono K, Horie T, Nagao K, Kinoshita M, Kuwabara Y, et al. MicroRNA-27a regulates beta cardiac myosin heavy chain gene expression by targeting thyroid hormone receptor beta1 in neonatal rat ventricular myocytes. *Mol Cell Biol*. 2011;31(4):744-55.
62. Wang J, Song Y, Zhang Y, Xiao H, Sun Q, Hou N, et al. Cardiomyocyte overexpression of miR-27b induces cardiac hypertrophy and dysfunction in mice. *Cell Res*. 2011 Aug 16. [Epub ahead of print].
63. Zhao T, Li J, Chen AF. MicroRNA-34a induces endothelial progenitor cell senescence and impedes its angiogenesis via suppressing silent information regulator 1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010;299(1):E110-6.
64. Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, Mione M, Koyanagi M, Fischer A, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science*. 2009;324(5935):1710-3.
65. Smits M, Mir SE, Nilsson RJ, van der Stoop PM, Niers JM, Marquez VE, et al. Down-regulation of miR-101 in endothelial cells promotes blood vessel formation through reduced repression of EZH2. *PLoS One*. 2011;6(1):e16282.
66. Kulshreshtha R, Ferracin M, Wojcik SE, Garzon R, Alder H, Agosto-Perez FJ, et al. A microRNA signature of hypoxia. *Mol Cell Biol*. 2007;27(5):1859-67.
67. Li D, Yang P, Xiong Q, Song X, Yang X, Liu L, et al. MicroRNA-125a/b-5p inhibits endothelin-1 expression in vascular endothelial cells. *J Hypertens*. 2010;28(8):1646-54.
68. Kim GH, Samant SA, Earley JU, Svensson EC. Translational control of FOG-2 expression in cardiomyocytes by MicroRNA-130a. *PLoS One*. 2009;4(7):e6161.
69. Katare R, Riu F, Mitchell K, Gubernator M, Campagnolo P, Cui Y, et al. Transplantation of human pericyte progenitor cells improves the repair of infarcted heart through activation of an angiogenic program involving Micro-RNA-132. *Circ Res*. 2011;109(8):894-906.
70. Cordes KR, Sheehy NT, White MP, Berry EC, Morton SU, Muth AN, et al. miR-145 and miR-143 regulate smooth muscle cell fate and plasticity. *Nature*. 2009;460(7256):705-10.
71. Li QJ, Chau J, Ebert PJ, Sylvester G, Min H, Liu G, et al. miR-181a is an intrinsic modulator of T cell sensitivity and selection. *Cell*. 2007;129(1):147-61.
72. Song XW, Li Q, Lin L, Wang XC, Li DF, Wang GK, et al. MicroRNAs are dynamically regulated in hypertrophic hearts, and miR-199a is essential for the maintenance of cell size in cardiomyocytes. *J Cell Physiol*. 2010;225(2):437-43.
73. Li Y, Song YH, Li F, Yang T, Lu YW, Geng YJ. MicroRNA-221 regulates high glucose-induced endothelial dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;381(1):81-3.



## Artigo de Revisão

74. Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, et al. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood*. 2006;108(9):3068-71.
75. Liu X, Cheng Y, Zhang S, Lin Y, Yang J, Zhang C. A necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia. *Circ Res*. 2009;104(4):476-87.
76. Zhu N, Zhang D, Chen S, Liu X, Lin L, Huang X, et al. Endothelial enriched microRNAs regulate angiotensin II-induced endothelial inflammation and migration. *Atherosclerosis*. 2011;215(2):286-93.
77. Ren XP, Wu J, Wang X, Sartor MA, Qian J, Jones K, et al. MicroRNA-320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat-shock protein 20. *Circulation*. 2009;119(17):2357-66.
78. Zhang X, Wang X, Zhu H, Zhu C, Wang Y, Pu WT, et al. Synergistic effects of the GATA-4-mediated miR-144/451 cluster in protection against simulated ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte death. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;49(5):841-50.