

O controle da (*El control de la*) expressão gênica por microRNAs e sua (*y su*) importância para a (*la*) medicina

The control of gene expression by microRNAs and their importance in medicine

Vagner Oliveira-Carvalho

Pesquisador Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, San Pablo, Brasil

Edimar Alcides Bocchi, Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, San Pablo, Brasil

Acceda a este artículo en siicsalud

Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)



www.siicsalud.com/dato/arsic.php/137819

Recepción: 20/8/2013 - Aprobación: 22/8/2014
Primera edición, www.siicsalud.com: 3/10/2014

Enviar correspondencia a: Vagner Oliveira-Carvalho, Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, San Pablo, Brasil
vagnercarvalho@usp.br



+ Especialidades médicas relacionadas,
producción bibliográfica y referencias
profesionales de los autores.

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a group of small RNAs, around 19-25 non-protein-coding nucleotides that are present in most eukaryotic organisms, including man. Since their discovery (1993), miRNAs have received great attention in the scientific community and present one of the most exciting areas of modern medical science. These molecules have the singular ability to modulate a huge and complex regulatory network of gene expression estimated at about 70% of the human genome. The miRNAs play their role in inhibiting the movement of specific mRNAs (post-transcriptional control), in other words, they reduce (or block) the synthesis of specific proteins during a certain time interval. The miRNAs thus play a crucial role not only in normal cellular processes, such as development and differentiation, but also in pathogenesis of various diseases. Recent studies show that the miRNA profile alters according to etiology, intensity and disease stage and may be used as potential tools in diagnosis and prognosis. In addition, the possible use of miRNAs to silence or activate specific genes is a promising tool that allows the development of new individual therapeutic strategies based on the specific condition of each patient. This review will discuss certain aspects of miRNA biology and how they may help us fight human disease.

Key words: microRNA, control of gene expression, biomarker, treatment, cancer

Resumo

MicroRNAs (miRNAs) são um (*constituyen un*) grupo de pequenos RNAs, com aproximadamente 19-25 nucleotídeos, que não-codificam (*no codifican*) proteínas e que estão (*y se encuentran*) presentes em grande parte dos organismos eucariotes, incluindo o homem. Desde a sua descoberta (1993) os miRNAs vêm ganhando um (*vienen ganando un*) enorme destaque na (*papel destacado en la*) comunidade científica, representando hoje uma das (*en la actualidad una de las*) áreas mais estimulantes da ciência médica moderna. Estas moléculas têm a singular (*poseen la singular*) habilidade de modularem uma (*para modular una*) enorme e complexa rede (*compleja red*) regulatória da expressão dos genes estimada em cerca de 70% do genoma humano. Os miRNAs exercem sua (*ejercen su*) função por meio da (*a través de la*) inibição da tradução de mRNAs específicos (controle pós-transcricional), ou seja, impedem a (*es decir, impiden la*) síntese de determinadas proteínas durante um certo intervalo de tempo. Desta forma, os miRNAs desempenham um papel crucial não só nos (*no sólo en los*) processos celulares normais, como desenvolvimento e (*desarrollo y*) diferenciação, mas também na (*en la*) patogênese de diversas doenças (*enfermedades*). Estudos recentes mostram que os perfis (*los perfiles*) de miRNAs se alteram de acordo com a etiologia, intensidade e estágio da (*y etapa de la*) doença, podendo ser utilizados como potenciais ferramentas de diagnóstico e prognóstico. Aliado a isto, a (*Asociado con esto, la*) possibilidade do uso dos miRNAs para silenciar ou ativar (*o activar*) genes específicos é uma (*constituye una*) atual e promissora ferramenta que permite o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas individualizadas, ou seja (*es decir*), baseadas na (*con base en la*) condição específica de cada paciente. Nesta revisão serão abordados aspectos sobre a biologia dos miRNAs e como eles podem nos ajudar no (*y como ellos pueden ayudar en el*) combate às (*de las*) enfermidades humanas.

Palabras chave: microRNA, controle da expressão gênica, biomarcador, tratamento, câncer

Justificativa e objetivos

Embora os (*Aunque los*) microRNAs sejam uma das (*son una de las*) áreas mais estimulantes da ciência biomédica atual, pouca informação sobre estas moléculas está disponível em línguas latinas, o (*lo*) que dificulta a sua (*su*) difusão e retarda o surgimento (*la aparición de*) de novos estudos. Desta forma, o objetivo deste estudo é fazer uma (*es realizar una*) revisão da (*de la*) literatura e introduzir aos leitores os (*los lectores en los*) principais conceitos sobre dos microRNAs.

Metodologia

Pesquisas bibliográficas foram realizadas no banco de dados (*en el banco de datos*) PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) utilizando como palavras-chave

Mesh terms relacionados. Foram incluídos apenas artigos (*artículos*) de língua inglesa. Demais dados específicos foram obtidos nos (*han sido obtenidos de los*) bancos de dados miRBase (<http://www.mirbase.org>) e miRandola (<http://atlas.dmi.unict.it/mirandola/>).

Introdução

O genoma humano codifica um amplo espectro de RNAs onde a (*en que la*) função da maioria destas moléculas tem sido parcialmente elucidada ou ainda (*dilucidada o aún*) permanece desconhecida. Didaticamente, podemos dividir os RNAs em dois grandes grupos: 1) RNAs codificadores de proteínas (RNA mensageiro ou mRNA), e 2) RNAs não codificadores de proteína (ncRNAs – exemplificados posteriormente).

Embora o genoma humano possua um (*tiene un*) grande número de genes, somente por volta (*sólo alrededor*) de 30% de todos os genes transcritos são codificadores de proteínas. Da mesma forma, somente 2% de todas as bases nitrogenadas transcritas compõem genes codificadores de proteínas, enquanto os ncRNAs representam 98% e aproximadamente 70% de todos os genes.¹

O grupo dos ncRNAs podem ser subdivididos em duas (*en dos*) classes: constitutivos e regulatórios. Os ncRNAs constitutivos são expressados continuamente e são essenciais para a estrutura e função normal das células, por exemplo os RNAs transportadores (tRNA) e ribossomais (rRNA). Já os ncRNAs regulatórios são seletivamente expressados e afetam a (*y afectan la*) expressão de outros genes ao (*al*) nível transcricional ou translacional.

Nos últimos anos, uma família de ncRNAs regulatórios, chamados (*llamados*) microRNAs (miRNAs) pelo seu pequeno comprimento (~22 nucleotídeos), tem chamado muita atenção por sua singular habilidade de modular uma enorme e complexa rede (*compleja red*) regulatória da expressão dos genes. Desde a sua descoberta (*Desde su descubrimiento*), estas moléculas têm fundamentalmente transformado a nossa (*nuestra*) compreensão de como os genes são regulados e como interagem (*interactúan*) entre si, representando hoje (*hoy*), uma das áreas mais estimulantes da ciência médica moderna.

A descoberta (*El descubrimiento*)

O primeiro miRNA foi descrito acidentalmente na Universidade de Harvard em 1993 quando Rosalind Lee, Rhonda Feinbaum e Victor Ambros estudavam o desenvolvimento do nemátodo *Caenorhabditis elegans*.² Diante da nova descoberta (*Frente al nuevo hallazgo*), os pesquisadores descreveram o miRNA como uma particularidade dos nemátodos.

No entanto, os (*Sin embargo, los*) miRNAs ainda não haviam sido reconhecidos como uma categoria distinta de reguladores biológicos. Até que em (*Hasta que en*) Fevereiro de 2000, Reinhart e colaboradores identificaram o segundo miRNA.³ Este miRNA foi mostrado estar presente em outras espécies, indicando que estes pequenos RNAs podiam atuar em varios organismos, incluindo vertebrados.⁴

A notícia logo se espalhou na (*pronto se difundió por la*) comunidade científica e o (*y el*) número de miRNAs conhecidos expandiu substancialmente. Hoje, mais de (*Hoy, más de*) 1 500 miRNAs diferentes já foram (*ya fueron*) identificados no (*en el*) genoma humano (<http://www.mirbase.org>) e este número tende a crescer ainda (*tiende a aumentar aún*) mais devido ao (*al*) recente desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento e métodos de predição (*predicción*) computacional.^{5,6}

Embora sua função ainda não esteja (*aún no está*) totalmente compreendida, sabemos que os miRNAs desempenham um papel chave em (*clave en*) diversos processos biológicos tais como o (*tales como el*) desenvolvimento, diferenciação e proliferação celular, e resposta ao (*y respuesta al*) exercício físico.^{7,8} Da mesma forma, doenças como a insuficiência cardíaca,⁹ diabetes¹⁰ e câncer¹¹ têm sido associadas a alterações nos (*en los*) padrões de expressão dos miRNAs.

Entendendo a nomenclatura

De acordo com a nomenclatura padrão, o prefixo "miR" (abreviação de microRNA) é seguido por um hífen e um (*guión y un*) número atribuído a ordem em que o

miRNA foi descoberto.^{12,13} Assim, o miR-208 foi descoberto antes do miR-456. O prefixo "mir" com a letra "r" minúscula refere-se ao (*se refiere al*) pre-miRNA, enquanto o maiúsculo (*mientras que la mayúscula*) "R" se refere à sua forma madura.^{12,13} Opcionalmente, pode ser inserida a (*insertada la*) espécie de origem, designado por um prefixo de três letras, onde a primeira refere-se ao gênero e as outras duas à (*y las otras dos a la*) espécie. Por exemplo, hsa-miR-208 para *Homo sapiens* e mmu-miR-208 para *Mus musculus* (camundongo [*ratón*]).^{12,13}

Alguns miRNAs apresentam sequências muito semelhantes, variando em apenas um ou dois (*uno o dos*) nucleotídeos. Nestes (*En estos*) casos, os miRNAs são nomeados com o (*son nombrados con el*) mesmo número, porém (*todavía*), com uma letra minúscula adicional. Por exemplo, miR-208a possui uma (*tiene una*) sequência muito semelhante a miR-208b, pertencendo (*perteneciendo*) à mesma família. Também é importante lembrar (*recordar*) que um mesmo miRNA maduro pode ser sintetizado por pre-miRNAs oriundos de regiões distintas do genoma. Neste caso, adiciona-se um sufixo (*sufijo*) numérico. Por exemplo, os pre-miRNAs mir-194-1 e mir-194-2 formam o mesmo miRNA maduro (miR-194), mas estão localizados em diferentes regiões do genoma.

Biologia dos miRNAs

Os miRNAs podem estar localizados em diversas regiões do genoma. Aproximadamente 70% dos miRNAs estão em (*se encuentran en*) regiões intrônicas ou exônicas e 30% em regiões intergênicas.¹⁴ Baseados na localização genômica podemos classificar os miRNAs em três grupos: 1) miRNAs exônicos: presentes em éxons (*en exones*) de unidades transcricionais não-codificadores de proteínas conhecidas como miRNA (*mRNA-like noncoding RNA*). Estes RNAs compartilham as (*comparten las*) mesmas propriedades do mRNA tais como *splicing*, poliadenilação, *capping* e expressão temporal, mas não codificam proteínas;¹⁵ 2) miRNAs intrônicos de transcritos (*transcritos*) não-codificadores de proteínas; e 3) miRNAs intrônicos de transcritos codificadores de proteínas. Além destes (*Además de estos*) três grupos, alguns miRNAs apresentam uma variação entre introns e exons dependendo do padrão de *splicing* alternativo, sendo assim chamados (*y son llamados*) de "categoria mixta".^{16,17}

Biogênese

O processo de síntese e maturação dos miRNAs envolve uma complexa (*involucra una compleja*) via metabólica que se inicia no núcleo e se estende até o (*y se extiende hasta el*) citoplasma celular. O primeiro passo para a maturação (*la maduración*) do miRNA é dado pela (*es dado por la*) enzima RNA polimerase II. Esta enzima transcreve uma longa fita (*una larga cinta*) de miRNA primário (pri-miRNA) a partir de um determinado gene.¹⁸ O pri-miRNA resultante é bem longo (*es bien largo*), possuindo centenas ou milhares de nucleotídeos, podendo conter de uma a seis (*contener de una a seis*) regiões precursoras (pre-miRNAs) que irão formar (*van a constituir*) miRNAs distintos.¹⁹ Cada pre-miRNA é composto por cerca de 70 nucleotídeos e é caracterizado por formar uma estrutura de alça dupla-fita (*doble cinta*). Estas estruturas são flanqueadas (*son flanqueadas*) por sequências nucleotídicas específicas que têm a função (*poseen la función*) de informar ao complexo enzimático Drosha (Pasha em invertebrados) onde começa e (*empieza y*) termina cada pre-miRNA.^{20,21} Drosha irá reconhecer esta região e clivar o (*y clivar el*)

pri-miRNA liberando os pre-miRNAs no núcleo celular. Porém, para que estas moléculas transformem-se em miRNAs, elas devem ser exportadas para o citoplasma através da proteína transportadora Exportina-5.^{22,23}

Uma vez no citoplasma, o pré-miRNA é submetido a um (*se somete a un*) segundo processamento realizado pela (*por la*) enzima Dicer.^{24,25} Como resultado, forma-se um RNA de dupla fita composto por aproximadamente 22 nucleotídeos. As duas fitas são então (*son*) separadas, porém, apenas uma delas (*una de ellas*) irá potencialmente atuar como um miRNA funcional, enquanto a outra geralmente é degradada.²⁶ Este processo de seleção é primariamente determinado pela estabilidade termodinâmica das fitas e pela forma com que se ligam na (*unen en la*) porção final da duplex.^{27,28}

Mecanismo de ação

A fita de miRNA, agora madura, é incorporada a um (*a un*) conjunto enzimático denominado RISC (*RNA-induced silencing complex*). O complexo miRNA-RISC exerce seu efeito (*ejerce su efecto*) regulatório através da ligação de seus nucleotídeos aos do (*a los del*) RNA mensageiro (mRNA)-alvo de maneira sequência-específica. Esta ligação impossibilita que os ribossomos consigam traduzir a informação genética contida nos (*contenida en los*) mRNAs, acarretando na (*promoviendo*) diminuição da síntese proteica do (*del*) gene-alvo sem impactar nos níveis (*en los niveles*) correspondentes de mRNA.²⁹

Entretanto, a interação miRNA-RNA não precisa (*no hace falta*) necessariamente ser perfeita, ou seja (*es decir*), todos os nucleotídeos do (*del*) miRNA ligados ao (*al*) RNA. De fato (*De hecho*), normalmente esta ligação é imperfeita em (*es imperfecta entre los*) mamíferos. Esta não obrigatoriedade (*Esta no obligatoriedad*) de interação completa somado ao fato de os (*agregada al hecho de que los*) miRNAs possuírem sequências pequenas, permitem que um único miRNA possa regular (*pueda regular*) centenas de genes-alvo distintos, assim como vários miRNAs diferentes podem cooperar no controle de um (*para el control de un*) único gene.³⁰

Contribuição dos microRNAs na prática clínica

Tendo em vista que os (*Teniendo en cuenta que los*) miRNAs modulam a expressão dos genes, não é (*no es*) difícil imaginar que em um (*en un*) estado patológico ou padrão de expressão dos miRNAs envolvidos em vias metabólicas relacionadas estarão alterados. Ainda hoje não se sabe ao certo se (*En la actualidad no se sabe bien si*) esta alteração dos miRNAs são uma causa ou efeito das doenças. De fato, um aumento ou diminuição da expressão de miRNAs específicos podem desencadear uma cascata (*una cascada*) genética que frequentemente está associado a uma alteração no estado fisiológico. Baseados nestas nuances (*Con base en estas características*) podemos associar o nível de expressão dos miRNAs a um diagnóstico, uma etiologia, e/ou (*o*) ter uma (*tener una*) indicação de como a doença irá progredir (*va a progresar*).

MicroRNAs no diagnóstico e prognóstico de doenças

Embora estejam (*Aunque están*) presentes em todos os tipos celulares, a maioria dos (*la mayoría de los*) miRNAs são mais (*son más*) expressos em certos tecidos do que em outros sendo assim chamados (*determinados tejidos que en otros y son llamados*) de miRNAs tecido-

-específicos. Para isso, sua expressão deve ser cerca de 20 vezes maior em um (*veces más elevada en un*) determinado tecido em relação aos outros (*a otros*).³¹ Por esse motivo, a maioria dos estudos clínicos têm se baseado na mensuração dos (*se han basado en la medición de los*) níveis de expressão de miRNAs em amostras do tecido (*en muestras del tejido*) de origem. Entretanto, a necessidade de procedimentos muito invasivos como biópsias tem limitado significativamente este tipo de pesquisa. Por outro lado, alguns miRNAs foram encontrados na (*en la*) corrente sanguínea e têm sido associados a diversos tipos de doença (*enfermedad*) como câncer e doenças vasculares. Estes miRNAs são chamados (*se conocen como*) de miRNAs circulantes (ou simplesmente c-miRNAs) e o fato (*y el hecho*) de poderem ser detectados em sangue (*en la sangre*) periférico os tornam (*los vuelven*) potencialmente utilizáveis para testes (*análisis*) rápidos e fáceis (*y fáciles*), auxiliando o diagnóstico ou guiando terapias.

Nos últimos anos (*En los últimos años*), diversos estudos vêm mostrando a (*han demostrado la*) importância dos miRNAs como biomarcadores em um amplo (*en un amplio*) espectro de doenças. Um grande exemplo disso é o (*de eso es el*) miR-208a. Este miRNA é altamente expresso no coração e (*en el corazón y*) praticamente indetectável no sangue.³² Porém (*Sin embargo*), quando existem lesões no coração (*lesiones en el corazón*) este miRNA extravasa para a (*sale hacia la*) corrente sanguínea elevando rapidamente seus níveis plasmáticos.³³ Desta forma, pode-se detectar, por exemplo, um infarto agudo do miocárdio por meio da (*por medio de la*) quantificação do miR-208a em sangue periférico.³⁴

Outra área em que os (*Otra área en que los*) miRNAs têm ganhado bastante força é (*fuerza es*) no estudo do câncer. De fato, os métodos atuais de identificação do câncer são invasivos e ainda é (*y aún es*) difícil detectar o câncer em estágios iniciais (*etapas iniciales*). Isto tem impulsionado o (*Esto ha impulsado el*) estudo dos c-miRNAs como biomarcadores em diversos tipos de câncer. Como exemplo temos o (*tenemos el*) miR-141, um miRNA derivado do tumor de próstata. Linhas (*Líneas*) de evidências indicam que o nível plasmático deste miRNA pode ser suficiente para distinguir pacientes com câncer de próstata dos (*de los*) indivíduos saudáveis.³⁵

MicroRNAs no tratamento de doenças

Recentemente, duas estratégias terapêuticas envolvendo o (*involucrando el*) conhecimento acerca dos miRNAs têm sido estudadas (*han sido estudiadas*): o uso de antagomirs e RNA de interferência (RNAi). Estas estratégias se baseiam na (*se basan en la*) normalização do nível de miRNAs específicos no tecido-alvo (*en el tejido blanco*), silenciando aqueles que apresentam expressão aumentada ou repondo (*o reponiendo*) aqueles que apresentam uma diminuição da expressão.³⁶

Em um estado patológico onde determinados miRNAs estejam super expressados, a primeira coisa que se pensa é como intervir no efeito causado pelo (*es como intervenir en el efecto causado por el*) aumento excessivo da expressão destes (*de estos*) miRNAs. Para este propósito foi desenvolvido uma classe de anti-miRNAs chamada antagomirs. Os antagomirs são pequenas sequências nucleotídicas antagonicas, de fitas simples, sintetizadas artificialmente para serem (*para ser*) perfeitamente complementares a um miRNA maduro específico. Quando injetados (*Cuando son inyectados*) sistêmica ou (*o*) localmente, os antagomirs interagem com os (*interactúan con*

los) miRNAs no citoplasma e hibridizam (*hibridan*) especificamente com o (*con el*) miRNA maduro alvo dificultando a ligação do (*la unión del*) miRNA com o seu respectivo RNAm. Desta forma, os antagomirs atuam como (*actúan como*) inibidores competitivos de miRNA e levam a uma diminuição do efeito causado pelo aumento excessivo da expressão de determinados miRNAs.³⁷

Longe (*Lejos*) de ser utópica, esta estratégia terapêutica já vem sendo (*ya está siendo*) estudada por diversos pesquisadores. Em estudo pioneiro (*En un estudio pionero*), camundongos com (*ratones con*) hipertrofia cardíaca foram administrados com um antagomir desenvolvido para inibir miR-21, um miRNA super expressado durante a hipertrofia. Como resultado, foi observado que os ratos (*los ratones*) apresentaram uma regressão significativa da hipertrofia cardíaca e fibrose, além da (*y fibrosis, además de la*) atenuação do comprometimento da função cardíaca.³⁸ Em outra abordagem (*En otro enfoque*) de sucesso, Esau *et al.*³⁹ inibiram com antagomirs a expressão de miR-122 em camundongos normais e obesos resultando em uma redução dos níveis plasmáticos de colesterol e uma diminuição das taxas (*de los índices*) de síntese de colesterol.

Estes resultados ilustram o grande potencial dos antagomirs como novas estratégias de tratamento em diversas doenças. No entanto, a maioria dos estudos até então (*Sin embargo, la mayoría de los estudios hasta la actualidad*) concentrou-se em "silenciar" apenas miRNAs isolados (*aislados*). Porém, tendo em vista (*No obstante, teniendo en cuenta*) que mais de um miRNA pode estar envolvido no (*involucrado en el*) processo patológico, provavelmente diversos miRNAs terão de ser (*deberán ser*) silenciados para a obtenção de uma terapia eficaz.

Assim como o (*Así como el*) aumento da expressão de alguns miRNAs pode estar relacionado ao desencadeamento (*al accionamiento*) de processos patogênicos, a diminuição da expressão de miRNAs específicos também pode levar a um (*puede llevar a un*) estado patológico.

No entanto, a intervenção a ser feita (*Sin embargo, la intervención a ser realizada*) para normalizar o nível de expressão destes miRNAs é baseada em (*se basa en*) uma revolucionária tecnologia chamada de RNA de interferência (RNAi). Esta tecnologia consiste na (*consiste en la*) administração de micromoléculas que irão mimetizar (*van a mimetizar*) funcionalmente os miRNAs naturais ligando-se aos (*uniéndose a los*) RNAm-alvo e inibindo a sua (*e inhibiendo su*) tradução. Estas micromoléculas são seqüências nucleotídicas artificiais de dupla fita que se assemelham aos (*son similares a los*) precursores de miRNA (pre-miRNA). Ao serem introduzidas nas (*Cuando son introducidas en las*) células, as micromoléculas são reconhecidas pela (*son reconocidas por la*) maquinaria da biogênese dos miRNAs e processadas pela enzima Dicer, sendo em seguida incorporados ao complexo enzimático RISC. Desta forma, elas irão (*ellas van a*) funcionar como uma reposição dos miRNAs pouco expressos regulando o mRNA-alvo de maneira semelhante aos miRNAs endógenos.⁴⁰ Existem dois tipos de micromoléculas que podem ser utilizadas na tecnologia do RNAi: *miR mimics* e *small interference RNA* (siRNA). Apesar de semelhantes, estas moléculas atuam de formas diferentes: os *miR mimics* são micromoléculas sintetizadas para serem idênticas aos miRNAs, ou seja, como não são (*es decir, como no son*) perfeitamente complementares a um mRNA-alvo, podem regular diversos mRNAs através da inibição da sua tradução, assim como um miRNA endógeno. Já o (*Ya el*)

siRNA é sintetizado para ser perfeitamente complementar a um mRNA-alvo e levar a sua (*ocasionar su*) degradação, tendo assim uma atuação pontual naquele (*con una actuación puntual en aquel*) mRNA específico. A descoberta da tecnologia do RNAi foi tão (*fue tan*) importante para a comunidade científica que os autores (Andrew Z. Fire e Craig C. Mello) foram contemplados com o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 2006.

No entanto, a reposição de miRNAs está sujeita a um obstáculo adicional: a especificidade. Os siRNAs devem atuar apenas sobre o (*deben actuar sólo sobre el*) tecido alvo. De outra forma, como no caso de serem administrados (*en caso de ser administrados*) sistemicamente, poderiam resultar em um ou mais (*en uno o más*) miRNAs exercendo função regulatória em tecidos em que estes (*en los cuales estos*) miRNAs normalmente não são expressos. Esta regulação errônea, provavelmente levaria ao (*conduciría al*) desencadeamento de efeitos colaterais.

Para superar este obstáculo, são necessários sistemas de administração mais complexos e (*más complejos y*) precisos. Para tal, o emprego de vetores virais vem sendo promissor (*el uso de vectores virales está siendo prometedor*). Estes vetores são produzidos pela bioengenharia a partir da substituição do material genético dos vírus não (*de los virus no*) patogênicos por siRNAs. Desta forma, quando os vírus infectarem as células, ao invés de inserirem o seu (*en lugar de insertar su*) material genético, irão depositar os (*van a depositar los*) siRNAs especificamente no tecido-alvo.⁴¹ Não obstante, novos e estimulantes sistemas de administração de siRNAs vêm sendo desenvolvidos, como o uso de nanopartículas e lipídeos modificados.⁴²

Assim como os antagomirs, a eficácia terapêutica do RNAi também vem sendo amplamente estudada em diversas doenças. Na cardiologia, vetores virais otimizados com (*virales optimizados con*) siRNAs foram utilizados em ratos com hipertrofia cardíaca reduzindo significativa o volume dos cardiomiócitos e fibrose cardíaca.⁴³ Uma das abordagens (*Uno de los enfoques*) mais impressionantes no uso dos (*en el uso de los*) RNAi foi o (*fue el*) controle da infecção do vírus HIV. Ao administrarem siRNAs específicos em linhagens (*en linajes*) de células humanas, os autores conseguiram inibir diversos mRNAs envolvidos na replicação (*involucrados con la replicación*) do vírus não permitindo (*no permitiendo*) que vírus se multipliquem.⁴⁴ Em outro estudo, publicado no mesmo ano (*en el mismo año*), siRNAs foram usados com sucesso ao (*con éxito al*) inibir um receptor celular para o vírus HIV-1 (CD4), reduzindo assim a habilidade do vírus de invadir as células.⁴⁵ Estes resultados são estimulantes e sugerem que o (*y sugieren que el*) RNAi pode ser uma ferramenta de grande valor no tratamento de diversas doenças, inclusive as infecciosas.

Considerações

A compreensão da biologia dos miRNAs e o seu (*y su*) papel nos (*en los*) processos patogênicos é uma nova e estimulante fronteira em diversas áreas da medicina. Apesar dos avanços (*de los avances*), ainda estamos engatinhando no (*gateando en el*) entendimento de como estas pequenas moléculas modulam os processos biológicos e patológicos. No entanto, está cada vez mais evidente o grande potencial dos miRNAs como novas ferramentas no diagnóstico e prognóstico, bem como (*así como*) promissoras estratégias terapêuticas em muitas doenças. Porém, antes de se tornarem uma realidade, muitos es-

todos ainda precisam ser realizados. São necessários, não somente (*no solo*) estudos de como ou quais (*o cuales*) miRNAs estão envolvidos nos (*están involucrados en los*) processos patológicos, mas também no desenvolvimento

de estratégias terapêuticas adequadas para uso na clínica médica. Ultrapassado os (*Superado los*) obstáculos, as terapêuticas baseadas em miRNA podem se tornar parte do nosso (*de nuestro*) arsenal contra as doenças humanas.

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2014
www.siic.salud.com

Los autores no manifiestan conflictos de interés.

Lista de abreviaturas y siglas

mRNA, ARN mensajero;; ncRNAs, ARN no codificadores de proteína; tRNA, ARN transportadores; rRNA, ARN ribosomales; miRNAs, microARN; RISC, RNA-induced silencing complex; siRNA, small interference ARN.

Cómo citar este artículo/Como citar este artículo

Oliveira-Carvalho V, Bocchi EA. O controle da (*El control de la*) expressão gênica por microRNAs e sua (*ya su*) importância para a (*la*) medicina. Salud i Ciencia 20(7):747-52, Ago 2014.

How to cite this article

Oliveira-Carvalho V, Bocchi EA. The control of gene expression by microRNAs and their importance to medicine. Salud i Ciencia 20(7): 747-52, Ago 2014.

Autoevaluación del artículo

Los microARN ejercen su función inhibiendo la traducción de secuencias específicas de ARN, con lo que reducen o anulan los niveles proteicos de un determinado gen. Actualmente, los microARN se encuentran en evaluación como herramientas diagnósticas, pronósticas y terapéuticas.

¿Cuál de estas afirmaciones acerca de los microARN es correcta?

A, Los antagonomicroARN son moléculas antagonistas que reducen la expresión de alelos; B, Es posible controlar los genes aumentando su expresión mediante microARN; C, El descubrimiento de formas circulantes fue útil para su uso como biomarcadores; D, Todas son correctas; E, Ninguna es correcta.

Verifique su respuesta en www.siic.salud.com/dato/evaluaciones.php/137819

Bibliografía

- Prasanth KV, Spector DL. Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the 'genome complexity' conundrum. *Genes Dev* 21(1):11-42, 2007.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 75(5):843-854, 1993.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 403(6772):901-906, 2000.
- Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, Hayward DC, Ball EE, Degnan B, Müller P, Spring J, Srinivasan A, Fishman M, Finnerty J, Corbo J, Levine M, Leahy P, Davidson E, Ruvkun G. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 408(6808):86-89, 2000.
- Lai EC, Tomancak P, Williams RW, Rubin GM. Computational identification of *Drosophila* microRNA genes. *Genome Biol* 4(7):R42, 2003.
- Grad Y, Aach J, Hayes GD, Reinhart BJ, Church GM, Ruvkun G, Kim J. Computational and experimental identification of *C. elegans* microRNAs. *Mol Cell* 11(5):1253-1263, 2003.
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 431(7006):350-355, 2004.
- Fernandes-Silva MM, Carvalho VO, Guimarães GV, Bacal F, Bocchi EA. Physical exercise and microRNAs: new frontiers in heart failure. *Arq Bras Cardiol* 98(5):459-466, 2012.
- Oliveira-Carvalho V, Silva MM, Guimarães GV, Bacal F, Bocchi EA. MicroRNAs: new players in heart failure. *Mol Biol Rep* 40(3):2663-2670, 2013.
- Tang X, Tang G, Ozcan S. Role of microRNAs in diabetes. *Biochim Biophys Acta* 1779(11):697-701, 2008.
- Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 302(1):1-12, 2007.
- Griffiths-Jones S, Grocock RJ, van Dongen S, Ba-

- teman A, Enright AJ. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res* 34(Database issue):D140-144, 2006.
- Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, Dreyfuss G, Eddy SR, Griffiths-Jones S, Marshall M, Matzke M, Ruvkun G, Tuschl T. A uniform system for microRNA annotation. *RNA* 9(3):277-279, 2003.
- Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 294(5543):862-864, 2001.
- Erdmann VA, Szymanski M, Hochberg A, Groot N, Barciszewski J. Non-coding, mRNA-like RNAs database Y2K. *Nucleic Acids Res* 28(1):197-200, 2000.
- Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res* 14(10A):1902-1910, 2004.
- Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6(5):376-385, 2005.
- Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, Kim VN. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J* 23(20):4051-4060, 2004.
- Shruti K, Shrey K, Vibha R. Micro RNAs: Tiny sequences with enormous potential. *Biochem Biophys Res Commun* 407(3):445-449, 2011.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 425(6956):415-419, 2003.
- Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature* 432(7014):231-235, 2004.
- Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 303(5654):95-98, 2004.
- Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 17(24):3011-3016, 2003.
- 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* 293(5531):834-838, 2001.
- Lund E, Dahlberg JE. Substrate selectivity of exportin 5 and Dicer in the biogenesis of microRNAs. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 71:59-66, 2006.
- Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, Xu Z, Aronin N, Zamore PD. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell* 115(2):199-208, 2003.
- Krol J, Sobczak K, Wilczynska U, Drath M, Jaskinska A, Kaczynska D, Krzyzosiak WJ. Structural features of microRNA (miRNA) precursors and their relevance to miRNA biogenesis and small interfering RNA/short hairpin RNA design. *J Biol Chem* 279(40):42230-42239, 2004.
- Khvorova A, Reynolds A, Jayasena SD. Functional siRNAs and miRNAs exhibit strand bias. *Cell* 115(2):209-216, 2003.
- Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, Parker R. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes Dev* 20(5):515-524, 2006.
- Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell* 126(6):1203-1217, 2006.
- Beuvink I, Kolb FA, Budach W, Garnier A, Lange J, Natt F, Dengler U, Hall J, Filipowicz W, Weiler J. A novel microarray approach reveals new tissue-specific signatures of known and predicted mammalian microRNAs. *Nucleic Acids Res* 35(7):e52, 2007.
- Oliveira-Carvalho V, Carvalho VO, Bocchi EA. The emerging role of miR-208a in the heart. *DNA Cell Biol* 32(1):8-12, 2013.
- Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem* 55(11):1944-1949, 2009.
- Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, Li Q, Li Y, He J, Qin YW, Jing Q. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial

infarction in humans. *Eur Heart J* 31(6):659-666, 2010.

35. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:10513-10518, 2008.

36. Oliveira-Carvalho V, Carvalho VO, Silva MM, Guimarães GV, Bocchi EA. MicroRNAs: a new paradigm in the treatment and diagnosis of heart failure? *Arq Bras Cardiol* 98(4):362-369, 2012.

37. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs'. *Nature* 438(7068):685-689, 2005.

38. Thum T, Gross C, Fiedler J, Fischer T, Kissler S, Bussen M, Galuppo P, Just S, Rottbauer W, Frantz S, Castoldi M, Soutschek J, Koteliensky V, Rosenwald A, Basson MA, Licht JD, Pena JT, Rouhanifard SH, Muckenthaler MU, Tuschl T, Martin GR, Bauersachs

J, Engelhardt S. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature* 456(7224):980-984, 2008.

39. Esau C, Davis S, Murray SF, Yu XX, Pandey SK, Pear M, Watts L, Booten SL, Graham M, McKay R, Subramaniam A, Propp S, Lollo BA, Freier S, Bennett CF, Bhanot S, Monia BP. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metab* 3(2):87-98, 2006.

40. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391(6669):806-811, 1998.

41. Gregorevic P, Blankinship MJ, Allen JM, Crawford RW, Meuse L, Miller DG, Russell DW, Chamberlain JS. Systemic delivery of genes to striated muscles using adeno-associated viral vectors. *Nat Med* 10(8):828-834, 2004.

42. Zhou J, Shum KT, Burnett JC, Rossi JJ. Nanopar-

ticle-Based Delivery of RNAi Therapeutics: Progress and Challenges. *Pharmaceuticals (Basel)* 6(1):85-107, 2013.

43. Suckau L, Fechner H, Chemaly E, Krohn S, Hadri L, Kocksämpfer J, Westermann D, Bisping E, Ly H, Wang X, Kawase Y, Chen J, Liang L, Sipo I, Vetter R, Weger S, Kurreck J, Erdmann V, Tschope C, Pieske B, Lebeche D, Schultheiss HP, Hajjar RJ, Poller WC. Long-term cardiac-targeted RNA interference for the treatment of heart failure restores cardiac function and reduces pathological hypertrophy. *Circulation* 119(9):1241-1252, 2009.

44. Jacque JM, Triques K, Stevenson M. Modulation of HIV-1 replication by RNA interference. *Nature* 418:435-438, 2002.

45. Novina CD, Murray MF, Dykxhoorn DM, Beresford PJ, Riess J, Lee SK, Collman RG, Lieberman J, Shankar P, Sharp PA. siRNA-directed inhibition of HIV-1 infection. *Nat Med* 8(7):681-686, 2002.

Curriculum Vitae abreviado del autor



Wagner Oliveira-Carvalho. Biólogo especialista em Genética Molecular, Mestre em Ciência e Doutorando em Ciência, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP, 2011), San Pablo, Brasil. Pesquisador, Instituto do Coração do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, USP, San Pablo, Brasil.