



CURSO BACHARELADO EM BIOMEDICINA

FELIPE RECH BUENO

**MOLÉCULAS DE MICRORNAS: INTERAÇÕES PATOLÓGICAS E
POSSÍVEIS APLICAÇÕES CLÍNICAS LABORATORIAIS**

Apucarana
2021



FELIPE RECH BUENO

**MOLÉCULAS DE MICRORNAS: INTERAÇÕES PATOLÓGICAS E
POSSÍVEIS APLICAÇÕES CLÍNICAS LABORATORIAIS**

Trabalho apresentado à disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso do 8º
Semestre do Curso de Biomedicina da
Faculdade de Apucarana.

Orientador: Profº. Mestre Vinícius Lopes
da Silva.

Apucarana
2021

FELIPE RECH BUENO

**MOLÉCULAS DE MICRORNAS: INTERAÇÕES PATOLÓGICAS E
POSSÍVEIS APLICAÇÕES CLÍNICAS LABORATORIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, com nota final igual a, conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^o. Mestre Vinícius Lopes da
Silva.
Faculdade de Apucarana

Prof^a Me. Bárbara Melina Viol
Faculdade de Apucarana

Prof^a Dra. Cássia Calixto de
Campos
Faculdade de Apucarana

Apucarana, ____ de _____ 2021

Agradeço à minha família e à minha namorada, pelos impulsos necessários para que eu possa sempre ir mais longe.

BUENO, Felipe Rech. **Moléculas de Micrornas: Interações Patológicas e Possíveis Aplicações Clínicas Laboratoriais**. 48 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Graduação em Biomedicina. Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana - Pr. 2021.

RESUMO

O presente estudo visa contribuir com a produção de conhecimento relativo às moléculas de microRNA (miRNA) no que envolve o seu uso para o auxílio em diagnósticos clínicos, como biomarcadoras. Além disso, também buscou discorrer sobre os perfis de expressões de microRNAs referentes à patologias e, para tanto, lançou mão da metodologia do estudo exploratório, delineado por pesquisa bibliográfica. Foram encontradas, dessa forma, relações de miRNAs com doenças como tumores de próstata, leucemia mieloide aguda, carcinomas papilíferos de tireoide, doença renal do diabetes, insuficiência cardíaca, aterosclerose subclínica, fibrilação atrial e infarto agudo do miocárdio, caracterizando possíveis biomarcadores. Tais resultados permitem concluir que os miRNAs são promissores biomarcadores para patologias, sendo importantes ferramentas tanto no diagnóstico, como no prognóstico e na avaliação de terapias.

Palavras-chave: miRNA; Biomarcadores; Análises clínicas.

BUENO, Felipe Rech. **Micron Molecules: Pathological Interactions and Possible Clinical Laboratory Applications**. 48 p. Course Completion Paper (Monograph). Degree in Biomedicine. Faculty of Apucarana - FAP. Apucarana - Pr. 2021.

ABSTRACT

The present study aims to contribute to the production of knowledge related to microRNA molecules (miRNA) involving their use to aid in clinical diagnoses, as biomarkers. In addition, it also sought to discuss the profiles of expressions of microRNAs referring to pathologies and, for that, make use of the methodology of exploratory study, delineated by bibliographical research. Thus, relationships of mirnas with diseases such as prostate tumors, acute myeloid leukemia, papillary thyroid carcinomas, kidney disease of diabetes, heart failure, subclinical atherosclerosis, atrial fibrillation and acute myocardial infarction were found, characterizing the biomarkers. Such results oblige us to fulfill that or miRNAs are promising biomarkers for pathologies, being important tools both in diagnosis, as in prognosis and in the evaluation of therapies.

Keywords: miRNA; Biomarkers; Clinical analysis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - BIOGÊNESE DO MIRNA.....	14
FIGURA 02 - MECANISMO DE AÇÃO DO MIRNA.....	15

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – RESULTADOS.....	30
----------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CaP - câncer de próstata

c-miRNA - miRNAs circulantes

DCV - doença cardiovascular

DRD - Doença Renal do Diabetes

DRE - exame digital retal

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

IC - Insuficiência Cardíaca

LLA - leucemias linfoblástica em fase aguda

LLC - leucemias linfoblástica em fase crônica

LMA - Leucemia mieloide Aguda

LMC-FC - Leucemia Mieloide Crônica em Fase Crônica

miRNA – microRNA

oncomiRNAs – miRNAs dotados de ação na oncogênese

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

PSA - antígeno específico da próstata

RT-qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real

tsmiRNA – miRNAs com ação supressora de tumor

VPN - Valor Preditivo Negativo

VPP - Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
APÊNDICE - ARTIGO	21
REFERÊNCIAS GERAIS.....	39
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA	44

1. INTRODUÇÃO

Examinando as relações evidenciadas entre microRNAs e patologias, é possível deparar-se com diversos estudos. A citar, o de Ricarte Filho (2006), que, percorrendo a respeito da atuação de miRNAs anômalos sobre o sistema endócrino, constata a expressão dos mesmos em adipócitos e nas ilhotas pancreáticas. Similarmente, Poy Mn (2004), examina a associação de tais moléculas com o diabetes e a produção de insulina. O estudo de Ricarte Filho (2006), relata, ademais, a relação de miRNAs com o desenvolvimento, ou mesmo supressão, de diversos tipos de cânceres, como o de próstata e de mama; o interesse da oncologia nesse grupo de moléculas é considerado também por Iscaife (2016), que demonstra a possibilidade do uso de miRNAs em terapias de combate ao câncer de próstata. Menciona-se, ainda, Marinho (2017), que explora a relação entre miRNAs circulantes e quadros de insuficiência cardíaca, Apresentando não apenas seus estudos de campo como outros textos científicos pertinentes. Tal ação sobre o músculo cardíaco é igualmente versada por Silva (2018), que elenca, juntamente, outras doenças cardíacas que possivelmente sofrem interferências por miRNAs.

Em consonância, autores como Nascimento (2019), demonstram o potencial dos miRNAs para monitoramento e diagnósticos precisos e precoces de patologias; no estudo em questão, é abordada a busca pelas moléculas específicas em soro e urina de pacientes com doença renal do diabetes. Além disso, Saldarriaga (2017) encontrou evidências de que miRNAs são moléculas importantes no diagnóstico da aterosclerose subclínica, realçando o envolvimento desse grupo de moléculas na atividade cardíaca. Por fim, cita-se Moraes (2018), que destaca o potencial da sorologia para miRNA circulantes no processo de diagnóstico e tratamento de pacientes com leucemia mieloide aguda, e também Moulatlet (2014), que estabelece ligações de miRNAs como marcadores para carcinoma papilífero de tireoide, patologias de vultoso espaço na área da oncologia.

Salienta-se que as relações de miRNAs com as diversas patologias citadas ainda são campos em expansão e que muitos dos processos e mecanismos ainda não foram esclarecidos; todavia, dos estudos exemplificados, é possível extrair informações de grande interesse para área médica.

2. OBJETIVOS

1.1 Objetivos Gerais

- Contribuir com a produção de conhecimento relativo a inovações na área gênica com enfoque em análises clínicas.

1.2 Objetivos Específicos

- Compilar e interligar conhecimentos envolvendo o uso de moléculas de microRNA (miRNA) para o auxílio em diagnósticos clínicos ;
- Discorrer sobre os perfis de expressões de microRNAs referentes à patologias;
- Desenvolver acerca da atuação das moléculas de microRNA como biomarcadores de alterações patológicas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

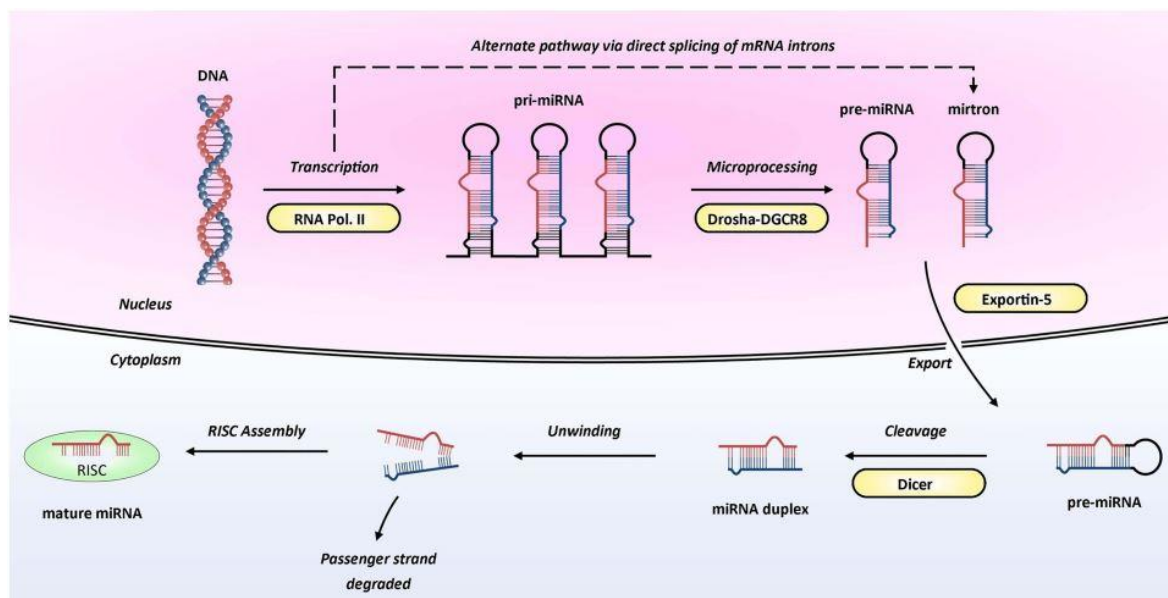
A genética é um campo de interesse para todas as áreas científicas, uma vez que as informações contidas em um genoma transparecem em um grande escopo de características do indivíduo. Dessa forma, com a popularização das análises genéticas, torna-se possível a prática de diagnósticos mais precisos no âmbito médico e se apresenta viável o acompanhamento e a prevenção de enfermidades para as quais se possuam predisposições antes ocultas para os métodos tradicionais de análises.

Nesse sentido, sabe-se atualmente que o mecanismo de expressão gênica envolve a classe dos microRNAs (miRNAs), descoberta pelo estudo de Lee et al. (1993). A classe é constituída por milhares de tipos de moléculas de RNA (ácido ribonucleicos) não codificantes (MORAIS & COSTA, 2018). Com cerca de 22 nucleotídeos de comprimento (MORAIS & COSTA, 2018), os miRNAs são moduladores gênicos pós-transcricionais, ou seja, ligam-se, seletivamente, à molécula de RNA mensageiros (RNAm), determinando se essa molécula será degradada ou terá sua tradução inibida ou mesmo estimulada (MOULATLET, 2014). Por ocorrer de forma pós-transcricional, esse mecanismo é chamado de “Regulação Epigenética”, influenciando na produção de proteínas sem influir no material genético nuclear propriamente. Por conseguinte, os miRNAs são considerados fundamentais na regulação gênica, sendo responsáveis por atuar nesse sentido em mais de 60% dos genes humanos (MORAIS & COSTA, 2018), estando a maior parte dos RNA mensageiros submetidos a sua atuação (MOULATLET, 2014).

Segundo Ricarte Filho & Kimura (2006), o início da formação da molécula de miRNA dá-se com a transcrição de seu código pela enzima RNA polimerase II, resultando, assim, em uma molécula de miRNA primário, dotada de estrutura *hairpin loop* (“grampo de cabelo”), a qual é clivada, ainda no núcleo, pela proteína do tipo RNases III chamada Drosha, juntamente com um cofator chamado DGCR8, tornando-se pré-miRNA. Ainda segundo o autor, o pré-miRNA é, então, transportado pela proteína exportina-5 ao citoplasma, onde, novamente pela ação de clivagem de uma proteína do tipo RNase III, aqui chamada Dicer, torna-se um miRNA de fita dupla; por fim, uma das fitas é associada à um complexo de enzimas chamado RISC

(*RNA-induced silence complex*), cujo principal componente são proteínas argonautas.

FIGURA 01 - BIOGÊNESE DO MIRNA.



Fonte: ROMAINE SPR et al (2015)

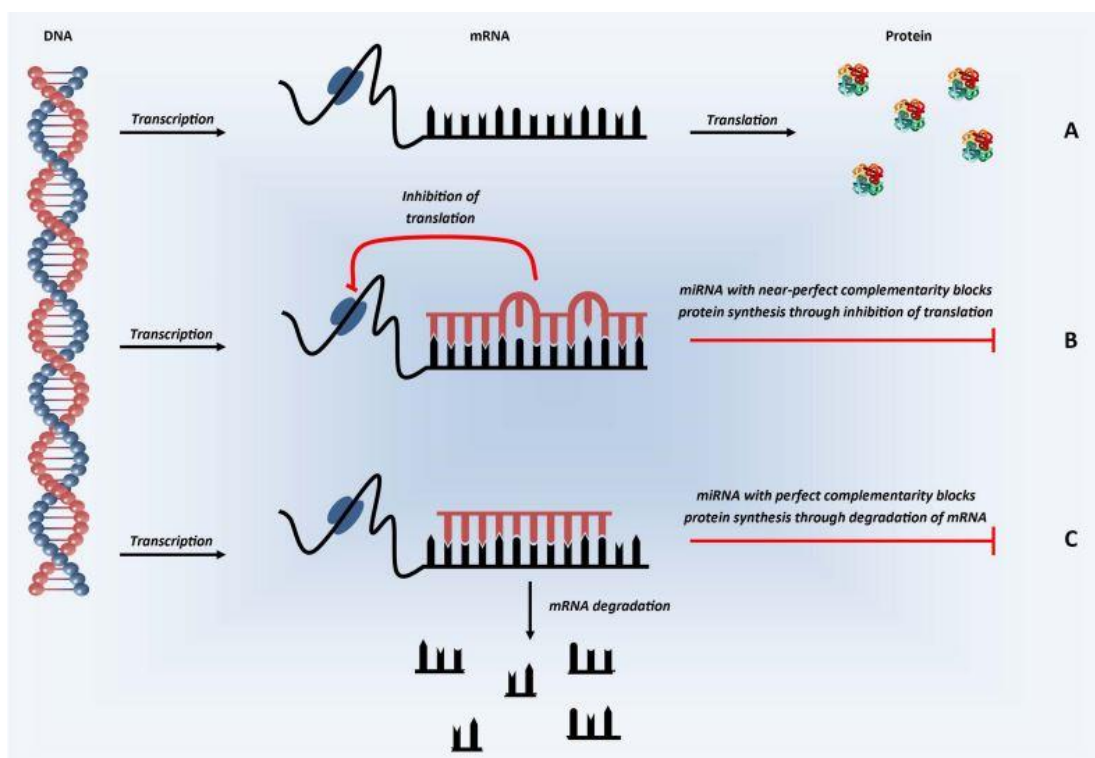
As proteínas argonautas são uma das responsáveis pelo transporte dos miRNAs para células-alvo, permitindo, dessa forma, que o miRNA atue como mensageiro químico (O'BRIEN, 2018). Como descreve O'Brien (2018), tal função de transporte também é exercida pelos exossomos, que são pequenas vesículas excretadas por diversas células e que podem conter lipídios, proteínas, RNAm e miRNA (RODE, 2019).

Além disso, se observa na figura 01 a existência de vias independentes da Drosha-DGCR8 para a formação do pré-miRNA, como por exemplo, aquela que resulta nos mirtrons, pré-miRNAs cuja biogênese ocorre a partir dos introns de RNAm, liberados durante o splicing (O'BRIEN, 2018). Ademais, o conjunto formado pela fita de miRNA com o complexo RISC constitui um miRNA maduro, apto a atuar sobre a expressão gênica pós transcricional, degradando ou inibindo RNAm.

Por conseguinte, a ligação entre miRNA e RNA mensageiro ocorre, segundo Ricarte Filho & Kimura (2006), por complementaridade de bases e na maioria das vezes a ligação ocorre na região 3' não traduzida (3'-UTR) do RNAm, podendo o miRNA degradar o RNAm-alvo ou inibir a tradução da molécula em proteína, quando

o pareamento é imperfeito, sendo essa a principal forma de atuação dos miRNAs em mamíferos. Por serem moléculas pequenas e passíveis de pareamento incompleto, miRNAs podem possuir até 200 RNAm como alvo de sua ação (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006). Observa-se, portanto, a alta relevância dessas moléculas para a manutenção do organismo e, quando tal mecanismo não desempenha de forma regular, fatalmente ocorre o desenvolvimento de doenças.

FIGURA 02 - MECANISMO DE AÇÃO DO miRNA



Fonte: ROMAINE SPR et al (2015)

São descritos, em estudos, diversas atuações do miRNA no organismo humano, como sua ação sobre as ilhotas pancreáticas (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006), bem como, dessa forma, na liberação de insulina (POY MN et al, 2004) e também no desenvolvimento do Diabetes (POY MN et al, 2004). Outros, além disso, abordam a relação de miRNAs com o câncer, podendo, algumas moléculas do grupo, suprimir ou promover certas patologias na área oncológica (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006); há evidências, inclusive, da possibilidade do uso terapêutico de miRNAs na oncologia (SILVA, 2018). Cita-se, por fim, interações das citadas moléculas com o músculo cardíaco (MARINHO, 2017. SILVA, 2018), contribuindo

para disfunções, como a insuficiência cardíaca (MARINHO, 2017). Baseado nisso, observa-se o potencial do uso de miRNAs circulantes ou teciduais, como biomarcadores em clínicas laboratoriais, contribuindo para diagnósticos mais precoces e precisos em áreas como nefrologia (NASCIMENTO & DOMINGUETI, 2019), cardiologia (SALDARRIAGA, 2017) e oncologia (MORAIS & COSTA, 2018. MOULATLET, 2014), bem como para um prognóstico acurado.

A baixa especificidade e sensibilidade dos métodos de diagnósticos tradicionais, como por imagem, e a necessidade de, por vezes, realizar coletas invasivas de material para biópsias de tecidos são fatores prejudiciais para o diagnóstico precoce de doenças. Nesse contexto, novos estudos na busca de marcadores confiáveis e de coleta pouco invasiva são fundamentais, sendo os microRNAs circulantes (miRNAs) promessas promissoras nesse campo. Por exemplo, o câncer de próstata (CaP), o tipo mais recorrente entre os homens e grande causador de mortalidades, tem por base de seus diagnósticos a biópsia da próstata (análise histológica), um método invasivo, e no toque retal (exame digital retal - DRE) e na metodologia de detecção, no sangue, do antígeno específico da próstata (PSA), duas ferramentas que oferecem um valor diagnóstico limitado diante de uma doença heterogênea, insuficientes para diferenciar os cânceres indolentes e agressivos.

Muitos miRNAs são tecido específicos e seus níveis de expressão podem ser mensurados em amostras do tecido de onde originam-se. Todavia, alguns miRNAs também estão presentes na corrente sanguínea, sendo chamados miRNAs circulantes (c-miRNA), podendo ser identificados de forma a transpor os desafios de coleta das amostras de tecidos através de métodos invasivos. Assim, pode-se identificar suas expressões para análise a partir do sangue periférico, o que torna os miRNAs moléculas com potencial para serem utilizadas em testes rápidos visando diagnóstico ou acompanhamento de terapias (OLIVEIRA-CARVALHO, 2012). Cita-se, por exemplo, os miRNAs chamados oncomiRNAs (dotados de ação na oncogênese), e os tumor supressor (ou tsmiRNA, de ação supressora de tumor), sendo classes que podem ter suas expressões alteradas para mais ou para menos na corrente sanguínea- superexpressão e subexpressão, respectivamente, ou ainda, regulação positiva e regulação negativa (MORAIS & COSTA, 2018), permite que

essas variações séricas, quando identificadas, sejam empenhadas para fins de diagnóstico.

Dito isso, o diagnóstico precoce pode representar a diminuição da mortalidade e das complicações associadas às patologias; bem como um diagnóstico impreciso resulta em procedimentos desnecessários, que elevam os gastos públicos com saúde, ou até mesmo o número de indivíduos acometidos por óbitos evitáveis e que, mediante diagnósticos melhores, poderiam apresentar um bom prognóstico. Sendo, por conseguinte, as moléculas de microRNAs, componentes de alta relevância na expressão gênica e visando contribuindo com a comunidade científica, agregando base teórica para posteriores estudos nesse campo, conclui-se oportuno o levantamento de informações sobre o tema. Aborda-se, dessa forma, as descobertas acerca da relação de microRNAs com certas patologias, bem como possibilidade de uso de tais moléculas como biomarcadores em diagnósticos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ISCAIFE, Alexandre. **O uso de microRNA para tratamento do câncer de próstata: estudos in vitro e in vivo.** 2016. Tese (Doutorado em Urologia) - Faculdade de Medicina, University of São Paulo, São Paulo, 2016. doi Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5153/tde-22082016-104926/publico/Alealexandrelscaife.pdf>. Acesso em: 2021-04-07.

LEE, Rosalind C et al. The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. **Cell Press**, Cambridge, Massachusetts, v. 75, p. 843-854, 3 dez. 1993. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(93\)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(93)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 7 nov. 2021.

MARINHO, Raphael Costa. **MicroRNA como biomarcador na insuficiência cardíaca.** 2017. 47 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/2596>. Acesso em: 05 Abr. 2021.

MORAIS, A. K. S. de; COSTA, A. P. R. da. PAPEL DO MICRORNA NA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A ONCOGÊNESE: BIOMARCADORES PARA LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - PERNAMBUCO**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 53, 2018. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/facipesaude/article/view/5983>. Acesso em: 8 abr. 2021.

MOULATLET, Ana Carolina Bernardini. **MicroRNAs como biomarcadores no carcinoma papilífero de tireóide: associação com mutações somáticas frequentes e significado biológico.** 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Biotecnologia, University of São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-08052014-163253/en.php>. Acesso em: 8 abr. 2021.

NASCIMENTO, Linicene Rosa do; DOMINGUETI, Caroline Pereira. MicroRNAs: novos biomarcadores e alvos terapêuticos promissores da doença renal do diabetes. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 412-422, Sept. 2019. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-28002019005061901&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 08 Abr. 2021.

O'BRIEN, Jacob. **Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation.** 2018. York University, Toronto, ON, Canada. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00402/full>. Acesso em: 3 dez. 2021.

OLIVEIRA-CARVALHO, V.; CARVALHO, V. O.; SILVA, M. M.; GUIMARÃES, G. V.; BOCCHI, E. A. **MicroRNAs: Um Novo Paradigma no Tratamento e Diagnóstico da Insuficiência Cardíaca?** *Arq Bras Cardiol*, v. 98, n. 4, p. 362-370, 2012.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/cVqdGQRkJ7hL87q77Rr74Pm/?lang=pt>. Acesso em: 8 abr. 2021.

Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. **Nature**. 2004;432(7014):226-30. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature03076>. Acesso em: 06 Abr. 2021

RICARTE FILHO, Júlio C.M.; KIMURA, Edna Teruko. MicroRNAs: nova classe de reguladores gênicos envolvidos na função endócrina e câncer. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 50, n. 6, p. 1102-1107, Dec. 2006 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302006000600018&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 05 Abr. 2021.

SALDARRIAGA, Magda Elizabeth Graciano. **Pesquisa de miRNAs circulantes, potenciais biomarcadores de aterosclerose subclínica em indivíduos euglicêmicos e pré-diabéticos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-24052017-161009/en.php>. Acesso em: 2021-04-08.

SILVA, Debora Cristina Pereira da et al . Papel dos miRNAs na Fisiopatologia das Doenças Cardiovasculares. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 111, n. 5, p. 738-746, Nov. 2018 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2018001700738&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 06 Abr. 2021.

APÊNDICE

BUENO, Felipe Rech. Moléculas de Micrnas: **Interações Patológicas e Possíveis Aplicações Clínicas Laboratoriais**. 48 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Graduação em Biomedicina. Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana - Pr. 2021.

ARTIGO

MOLÉCULAS DE MICRORNAS: INTERAÇÕES PATOLÓGICAS E POSSÍVEIS APLICAÇÕES CLÍNICAS LABORATORIAIS

BUENO, F. R.¹

DA SILVA, V. L.²

RESUMO

O presente estudo visa contribuir com a produção de conhecimento relativo às moléculas de microRNA (miRNA) no que envolve o seu uso para o auxílio em diagnósticos clínicos, como biomarcadoras. Além disso, também buscou discorrer sobre os perfis de expressões de microRNAs referentes à patologias e, para tanto, lançou mão da metodologia do estudo exploratório, delineado por pesquisa bibliográfica. Foram encontradas, dessa forma, relações de miRNAs com doenças como tumores de próstata, leucemia mieloide aguda, carcinomas papilíferos de tireoide, doença renal do diabetes, insuficiência cardíaca, aterosclerose subclínica, fibrilação atrial e infarto agudo do miocárdio, caracterizando possíveis biomarcadores. Tais resultados permitem concluir que os miRNAs são promissores biomarcadores para patologias, sendo importantes ferramentas tanto no diagnóstico, como no prognóstico e na avaliação de terapias.

Palavras-chave: miRNA; Biomarcadores; Análises clínicas.

¹ Felipe Rech Bueno. Graduando do Curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2021. Contato: felipe.r.bueno@hotmail.com

² Vinícius Lopes da Silva. Orientador da pesquisa. Docente do Curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2021. Contato: vinicius.silva@fap.com.br

BUENO, Felipe Rech. **Micron Molecules: Pathological Interactions and Possible Clinical Laboratory Applications**. 48 p. Course Completion Paper (Monograph). Degree in Biomedicine. Faculty of Apucarana - FAP. Apucarana - Pr. 2021.

ABSTRACT

The present study aims to contribute to the production of knowledge related to microRNA molecules (miRNA) involving their use to aid in clinical diagnoses, as biomarkers. In addition, it also sought to discuss the profiles of expressions of microRNAs referring to pathologies and, for that, make use of the methodology of exploratory study, delineated by bibliographical research. Thus, relationships of miRNAs with diseases such as prostate tumors, acute myeloid leukemia, papillary thyroid carcinomas, kidney disease of diabetes, heart failure, subclinical atherosclerosis, atrial fibrillation and acute myocardial infarction were found, characterizing the biomarkers. Such results oblige us to fulfill that or miRNAs are promising biomarkers for pathologies, being important tools both in diagnosis, as in prognosis and in the evaluation of therapies.

Keywords: miRNA; Biomarkers; Clinical analysis.

¹ Felipe Rech Bueno. Graduando do Curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2021. Contato: felipe.r.bueno@hotmail.com

² Vinícius Lopes da Silva. Orientador da pesquisa. Docente do Curso de Biomedicina da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2021. Contato: vinicius.silva@fap.com.br

INTRODUÇÃO

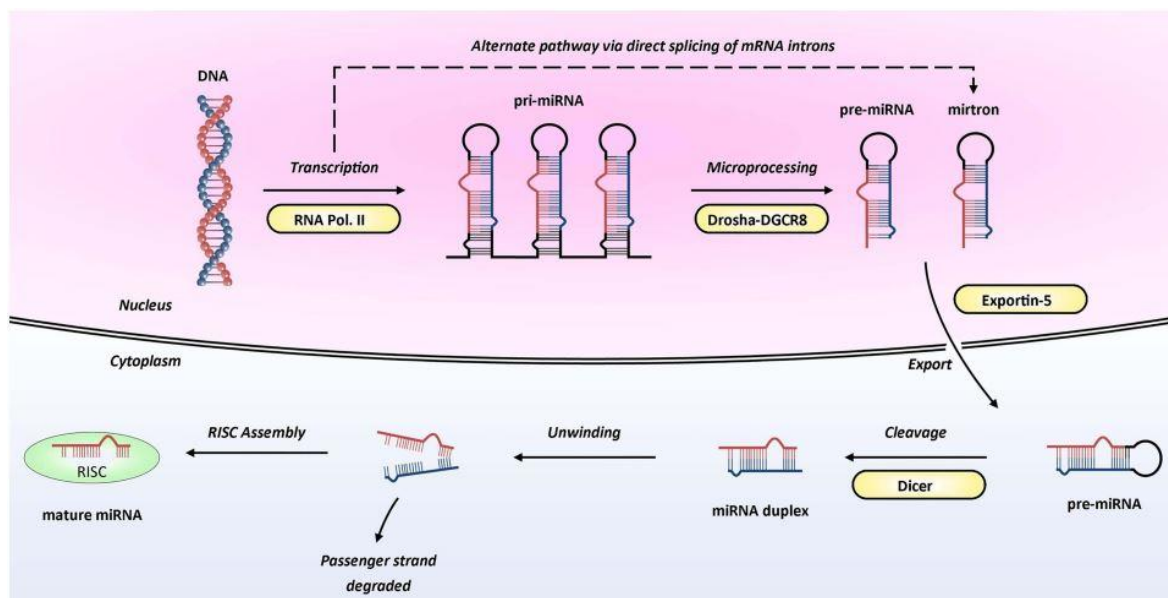
A genética é um campo de interesse para todas as áreas científicas, uma vez que as informações contidas em um genoma transparecem em um grande escopo de características do indivíduo. Dessa forma, com a popularização das análises genéticas, torna-se possível a prática de diagnósticos mais precisos no âmbito médico e se apresenta viável o acompanhamento e a prevenção de enfermidades para as quais se possua predisposições antes ocultas para os métodos tradicionais de análises.

Nesse sentido, sabe-se atualmente que o mecanismo de expressão gênica envolve a classe dos microRNAs (miRNAs), descoberta pelo estudo de Lee et al. (1993). A classe é constituída por milhares de tipos de moléculas de RNA (ácido ribonucleicos) não codificantes (MORAIS & COSTA, 2018). Com cerca de 22 nucleotídeos de comprimento (MORAIS & COSTA, 2018), os miRNAs são moduladores gênicos pós-transcricionais, ou seja, ligam-se, seletivamente, à molécula de RNA mensageiros (RNAm), determinando se essa molécula será degradada ou terá sua tradução inibida ou mesmo estimulada (MOULATLET, 2014). Por ocorrer de forma pós-transcricional, esse mecanismo é chamado de “Regulação Epigenética”, influenciando na produção de proteínas sem influir no material genético nuclear propriamente. Por conseguinte, os miRNAs são considerados fundamentais na regulação gênica, sendo responsáveis por atuar nesse sentido em mais de 60% dos genes humanos (MORAIS & COSTA, 2018), estando a maior parte dos RNA mensageiros submetidos a sua atuação (MOULATLET, 2014).

Segundo Ricarte Filho & Kimura (2006), o início da formação da molécula de miRNA dá-se com a transcrição de seu código pela enzima RNA polimerase II, resultando, assim, em uma molécula de miRNA primário, dotada de estrutura *hairpin loop* (“grampo de cabelo”), a qual é clivada, ainda no núcleo, pela proteína do tipo RNases III chamada Drosha, juntamente com um cofator chamado DGCR8, tornando-se pré-miRNA. Ainda segundo o autor, o pré-miRNA é, então, transportado pela proteína exportina-5 ao citoplasma, onde, novamente pela ação de clivagem de uma proteína do tipo RNase III, aqui chamada Dicer, torna-se um miRNA de fita dupla; por fim, uma das fitas é associada à um complexo de enzimas chamado RISC

(*RNA-induced silence complex*), cujo principal componente são proteínas argonautas.

FIGURA 01: BIOGÊNESE DO MIRNA.



Fonte: ROMAINE SPR, et al (2015)

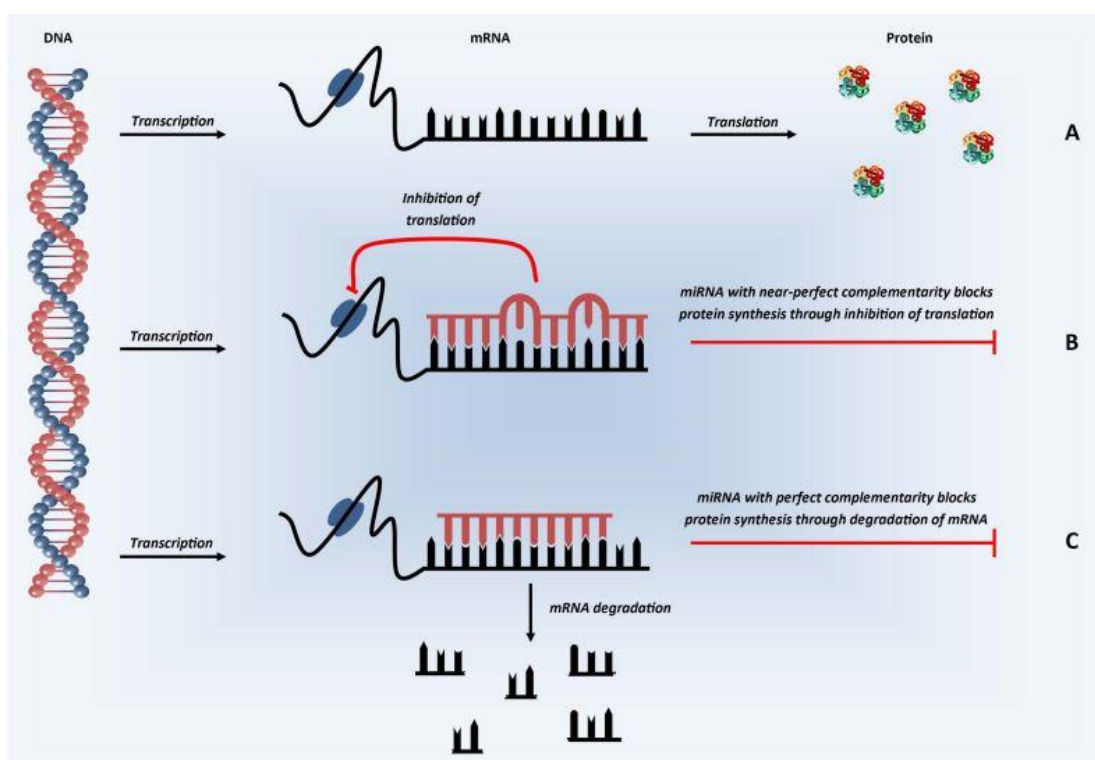
As proteínas argonautas são uma das responsáveis pelo transporte dos miRNAs para células-alvo, permitindo, dessa forma, que o miRNA atue como mensageiro químico (O'BRIEN, 2018). Como descreve O'Brien (2018), tal função de transporte também é exercida pelos exossomos, que são pequenas vesículas excretadas por diversas células e que podem conter lipídios, proteínas, RNAm e miRNA (RODE, 2019).

Além disso, se observa na figura 01 a existência de vias independentes da Drosha-DGCR8 para a formação do pré-miRNA, como por exemplo, aquela que resulta nos mirtrons, pré-miRNAs cuja biogênese ocorre a partir dos introns de RNAm, liberados durante o splicing (O'BRIEN, 2018). Ademais, o conjunto formado pela fita de miRNA com o complexo RISC constitui um miRNA maduro, apto a atuar sobre a expressão gênica pós transcricional, degradando ou inibindo RNAm.

Por conseguinte, a ligação entre miRNA e RNA mensageiro ocorre, segundo Ricarte Filho & Kimura (2006), por complementaridade de bases, na região 3' do RNAm, podendo o miRNA degradar o RNAm-alvo ou inibir a tradução da molécula em proteína, quando o pareamento é imperfeito, sendo essa a principal

forma de atuação dos miRNAs em mamíferos. Por serem moléculas pequenas e que passíveis de pareamento incompleto, miRNAs podem possuir até 200 RNAm como alvo de sua ação (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006). Observa-se, portanto, a alta relevância dessas moléculas para a manutenção do organismo e, quando tal mecanismo não desempenha de forma regular, fatalmente ocorre o desenvolvimento de doenças.

FIGURA 02: MECANISMO DE AÇÃO DO miRNA



Fonte: ROMAINE SPR et al (2015)

São descritos, em estudos, diversas atuações do miRNA no organismo humano, com o sua ação sobre as Ilhotas Pancreáticas (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006), bem como, dessa forma, na liberação de insulina (Poy MN et al, 2004) e também no desenvolvimento do diabetes (Poy MN et al, 2004). Outros, além disso, abordam a relação de miRNAs com o câncer, podendo, algumas moléculas do grupo, suprimir ou promover certas patologias na área oncológica (RICARTE FILHO & KIMURA, 2006); há evidências, inclusive, da possibilidade do uso terapêutico de miRNAs na oncologia (SILVA, 2018). Cita-se, por fim, interações das citadas moléculas com o músculo cardíaco (MARINHO, 2017. SILVA, 2018),

contribuindo para disfunções, como a insuficiência cardíaca (MARINHO, 2017). Baseado nisso, observa-se o potencial do uso de miRNAs circulantes ou teciduais, como biomarcadores em clínicas laboratoriais, contribuindo para diagnósticos mais precoces e precisos em áreas como nefrologia (NASCIMENTO & DOMINGUETI, 2019), cardiologia (SALDARRIAGA, 2017) e oncologia (MORAIS & COSTA, 2018. MOULATLET, 2014), bem como para um prognóstico acurado.

A baixa especificidade e sensibilidade dos métodos de diagnósticos tradicionais, como por imagem, e a necessidade de, por vezes, realizar coletas invasivas de material para biópsias de tecidos são fatores prejudiciais para o diagnóstico precoce de doenças. Nesse contexto, novos estudos na busca de marcadores confiáveis e de coleta pouco invasiva são fundamentais, sendo os microRNAs circulantes (miRNAs) promessas promissoras nessa campo. Por exemplo, o câncer de próstata (CaP), o tipo mais recorrente entre os homens e grande causador de mortalidades, tem por base de seus diagnósticos a biópsia da próstata (análise histológica), um método invasivo, e no toque retal (exame digital retal - DRE) e na metodologia de detecção, no sangue, do antígeno específico da próstata (PSA), duas ferramentas que oferecem um valor diagnóstico limitado diante de uma doença heterogênea, insuficientes para diferenciar os cânceres indolentes e agressivos.

Muitos miRNAs são tecido específicos e seus níveis de expressão podem ser mensurados em amostras do tecido de onde originam-se. Todavia, alguns miRNAs também estão presentes na corrente sanguínea, sendo chamados miRNAs circulantes (c-miRNA), podendo ser identificados de forma à transpor os desafios de coleta das amostras de tecidos através de métodos invasivos. Assim, pode-se identificar suas expressões para análise a partir do sangue periférico, o que torna os miRNAs moléculas com potencial para serem utilizadas em testes rápidos visando diagnóstico ou acompanhamento de terapias (OLIVEIRA-CARVALHO, 2012). Cita-se, por exemplo, os miRNAs chamados oncomiRNAs (dotados de ação na oncogênese), e os tumor supressor (ou tsmiRNA, de ação supressora de tumor), sendo classes que podem ter suas expressões alteradas para mais ou para menos na corrente sanguínea- superexpressão e subexpressão, respectivamente, ou ainda, regulação positiva e regulação negativa (MORAIS & COSTA, 2018), permite que

essas variações séricas, quando identificadas, sejam empenhadas para fins de diagnóstico.

Dito isso, o diagnóstico precoce pode representar a diminuição da mortalidade e das complicações associadas às patologias; bem como um diagnóstico impreciso resulta em procedimentos desnecessários, que elevam os gastos públicos com saúde, ou até mesmo o número de indivíduos acometidos por óbitos evitáveis e que, mediante diagnósticos melhores, poderiam apresentar um bom prognóstico. Sendo, por conseguinte, as moléculas de microRNAs, componentes de alta relevância na expressão gênica e visando contribuindo com a comunidade científica, agregando base teórica para posteriores estudos nesse campo, conclui-se oportuno o levantamento de informações sobre o tema. Abordasse, dessa forma, as descobertas acerca da relação de microRNAs com certas patologias, bem como possibilidade de uso de tais moléculas como biomarcadores em diagnósticos.

METODOLOGIA

O presente estudo foi empreendido através de uma revisão crítica e integrativa da literatura, respeitando à metodologia do estudo descritivo. Assim, o mesmo será suscitado mediante análise do conteúdo de materiais disponíveis nas bases de dados online Scielo, Google acadêmico e PubMed, haja vista a considerável gama de informações disponíveis a partir desses veículos. Para tanto, como critério de inclusão, considerou-se estudos elaborados nos últimos 5 anos, nacional e internacionalmente, de conteúdo integralmente disponível e que continham os seguintes descritores: “microRNA”, “biomarcadores” e “diagnóstico”; em inglês, "microRNA", "serum biomarkers" e "diagnosis", sendo desconsiderados os trabalhos não condizentes com tais critérios. Por fim, foram selecionadas 10 estudos e compiladas as moléculas de miRNA que apresentaram variações em suas expressões dentro dos respectivos estudos.

RESULTADOS:

O estudo de Paiva (2020), abordando miRNAs como biomarcadores para câncer de próstata (CaP) selecionou 44 miRNAs onde, ao fim, apenas 4 foram submetidos à validação, valendo-se da metodologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) para análise hematológica e de urina de 22 pacientes com CaP e 28 indivíduos controles. Pode-se então observar um maior concentração das moléculas miR200b-3p, miR-21-5p e miR-375 no tecido afetado pela doença, no entanto, apenas o miR-375 apresentou elevação sérica significativa, sendo que as moléculas citadas não variaram suas concentrações nas amostras de urina.

Rode (2019) analisou miRNAs de exossomos de células tumorais de câncer de próstata e de pacientes controle. Para tanto, obteve o RNA total dos exossomos e procedeu análise pela técnica de microarranjo. Identificou 88 miRNAs potenciais e, por validação da expressão por reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), chegou à 18 miRNAs, concluindo que os miRNAs miR-205-5p, miR-6893-5p, miR-148a-3p e miR-4286 apresentaram hiperexpressão nos exossomos tumorais em relação ao não tumoral;

Petrarca (2016), também discorrendo sobre câncer colorretal, baseou seus estudos em dados clínicos e anatomopatológicos de pacientes, maior parte com mais de 60 anos de idade, que passaram por remoção cirúrgica de tumor primário e linfonodos regionais. A análise da expressão dos miRNAs nos materiais foi realizada por RT-qPCR, encontrou-se tendência de superexpressão dos miRNAs mir-570, mir-16, mir-338, Let-7, mir-1, mir-150, mir-183, mir-650 e mir-31 nas amostras de tumor. Já nos linfonodos doentes, aferiu-se superexpressão dos miRNAs mir-570, mir-338, mir-1, mir-183 e mir-31 e hipoexpressões os mir-16, Let-7, mir-150 e mir-650.

Já no trabalho de revisão elaborado por Moraes & Costa (2018), valendo-se de estudos com miRNAs circulantes. é apresentado a influência de miRNAs sobre a oncogênese da leucemia mieloide aguda (LMA), partindo do princípio que miRNAs possuem uma função importante sobre o sistema hematopoiético. Por conseguinte, observou que os miRNAs miR-10a-5p, miR-93-5p, miR-129-5p, miR-155-5p, miR-181b-5p e miR-320d se apresentaram com concentração elevada em pacientes com LMA comparando-se com o grupo controle.

Em seu estudo, também uma revisão bibliográfica de estudos utilizando miRNAs circulantes, Ferreira (2016) visou levantar um perfil global de expressão em pacientes com leucemia mieloide crônica em fase crônica (LMC-FC). Observou, então, que os miRNAs miR-16-5p, miR-1-3p, miR-291a-3p, miR-27a-3p apresentam níveis de expressão diminuído; e aumentados de forma estatisticamente significantes os níveis de miR-150-5p e miR-451a.

Lopes (2019), submeteu amostras de plasma e fragmentos de tecido tumorais de 30 mulheres com câncer de mama à RT-qPCR, visando analisar a expressão de microRNAs. Observou-se, na análise plasmática, aumento da expressão tanto de oncomiR-210 quanto do supressor miR152, em comparação ao grupo controle. Já nas amostras de fragmento tumoral, ocorreu elevação do oncomiR-210 e diminuição de miR152.

Assmann (2017) revisou 27 estudos relacionados a expressão de miRNAs em pacientes com doença renal do diabetes (DRD) e comparando com indivíduos controles com os resultados de um estudo de validação; além disso, cita-se a utilização de amostras plasmáticas e da metodologia RTq-PCR. Teve, então, como achado os miR-21-3p e miR-378a-5p aumentados nos pacientes com DRD em comparação ao grupo controle; enquanto os miR-16-5p e miR-29a-3p, diminuídos.

Costa (2018) também promoveu pesquisa envolvendo a expressão de miRNAs no plasma de pacientes com DRD, comparando os resultados com um grupo controle - fizeram parte do estudo 19 participantes, sendo 10 o número de indivíduos para controle, e foi também utilizada a metodologia RTq-PCR. O estudo constatou a diminuição da molécula miR-29a-3p em pacientes com DRD severa.

Há, ainda, estudos no campo da cardiologia envolvendo miRNAs. Assim, no estudo de Marinho (2017), por exemplo, foi abordada a relação entre essas moléculas e a insuficiência cardíaca (IC), visto que há entre 150 e 200 miRNAs expressos no sistema cardiovascular (MARINHO, 2017). Foi aferido, portanto, que pacientes com IC possuem miR-1207-5P, miR-6887, miR-548a-3p e miR4530 elevados na circulação, enquanto os tipos miR-3157-3p e miR-1234-3p reduzidos na mesma. Ressalta-se, no entanto, que o grupo amostral do estudo é considerado pequeno, com apenas 10 pacientes. Cita-se, além disso, o estudo de Saldarriaga (2017) que, abordando outra doença cardiovascular (DCV), a aterosclerose subclínica, conclui que miR98-5p elevados e miR-212-3p, miR-145-5p, miR93-5p,

miR15a-5p, miR-19a-3p e miR32-5p diminuídos envolvem a doença. Além disso, também identificou variações de miR-212-3p.

Outro estudo, recente, conduzido por Monnaka et al (2021), buscou averiguar a possibilidade de uso de miRNAs como biomarcadores para endometriose. Concluiu-se que, mediante os estudos analisados, não se permitiu validar qualquer miRNAs como biomarcador confiável no diagnóstico da doença mediante uma coleta pouco invasiva de amostra.

TABELA 01 – RESULTADOS

AUTORES	ANO	PATOLOGIA	AMOSTRA	miRNAs	VARIAÇÃO
PAIVA	2020	Câncer de Próstata	Sangue Periférico	miR-375	Hiperexpressão
			Biópsia	miR200b-3p; miR-21-5p; miR-375	Hiperexpressão
			Urina	–	Sem variações
RODE	2019	Câncer de Próstata	Exossomos	miR-205-5p; miR-6893-5p; miR-148a-3p; miR-4286	Hiperexpressão
PETRARCA	2016	Câncer Colorretal	Biópsia de Linfonodos regionais doentes	mir-570; mir-338; mir-1; mir-183; mir-31	Hiperexpressão
				mir-16; Let-7; mir-150; mir-650	hipoexpressão
			Biópsia do tumor	mir-570; mir-16; mir-338; Let-7; mir-1; mir-150; mir-183; mir-650; mir-31	Hiperexpressão
MORAIS & COSTA	2018	Leucemia mieloide Aguda	Sangue Periférico	miR-10a-5p; miR-93-5p; miR-129-5p; miR-155-5p; miR-181b-5p; miR-320d	Hiperexpressão

FERREIRA	2016	Leucemia Mieloide Crônica em Fase Crônica	Sangue Periférico	miR-16-5p; miR-1-3p; miR-291a-3p; miR-27a-3p	hipoexpressão
				miR-150-5p; miR-451a	Hiperexpressão
LOPES	2019	Câncer de Mama	Sangue Periférico	supressor miR152	Hiperexpressão
				oncomiR-210	Hiperexpressão
			Biópsia	Supressor miR152	Hipoexpressão
				oncomiR-210	Hiperexpressão
ASSMANN	2017	Doença Renal do Diabetes	Sangue Periférico	miR-21-3p; miR-378a-5p	Hiperexpressão
				miR-16-5p; miR-29a-3p	hipoexpressão
COSTA	2018	Doença Renal do Diabetes	Sangue Periférico	miR-29a-3p	hipoexpressão
MARINHO	2017	Insuficiência Cardíaca	Sangue Periférico	miR-1207-5P; miR-6887; miR-548a-3p; miR4530	Hiperexpressão
				miR-3157-3p; miR-1234-3p	hipoexpressão
SALDARRIAGA	2017	Aterosclerose Subclínica	Sangue Periférico	miR98-5p	Hiperexpressão
				miR-212-3p; miR-145-5p; miR93-5p; miR15a-5p; miR-19a-3p; miR32-5p	hipoexpressão

FONTE - O Autor (2021)

DISCUSSÃO

O estudo de Saldarriaga (2017) conclui que miR98-5p, miR-212-3p, miR-145-5p, miR93-5p, miR15a-5p, miR-19a-3p, miR32-5p e o miR-212-3p podem ser importante biomarcador para o diagnóstico e acompanhamento de aterosclerose subclínica. Em um estudo mais amplo no campo da relação de miRNAs com as doenças cardiovasculares (DCVs), Silva (2018) afirma que moléculas de miRNA poderiam ser indicadoras não só de insuficiência cardíaca e aterosclerose, como também de fibrilação atrial e infarto agudo do miocárdio (IAM), demonstrando o campo promissor para o diagnóstico de DCVs em laboratórios de análises clínicas.

Quanto ao câncer de próstata (CaP), o estudo de Paiva (2020) encontrou variação para mais na concentração sérica das moléculas miR200b-3p, miR-21-5p e miR-375, enquanto concentrações de miRNAs não variaram nas amostras de urina; já Rode (2019) promoveu análise de miRNAs de exossomos de células tumorais, encontrando moléculas diferentes das encontradas por Paiva (2020) para a mesma patologia. Assim, observa-se que miRNAs analisados para CaP, variam em família da molécula e de expressão a depender do tecido coletado para amostra.

Além disso, Petrarca (2016), em seu estudo relacionado ao câncer colorretal, conclui que padrão de expressão dos miRNAs varia a depender do tecido analisado para uma mesma doença e mesmo paciente. Salieta-se que o estudo de Petrarca (2016) só foi possível graças ao banco de tumores de câncer colorretal do Serviço de Oncologia do Hospital São Lucas – PUCRS, iniciado em 2002, demonstrando a importância desse tipo de estrutura para o avanço do conhecimento científico sobre os miRNAs. Todavia, apenas 18,6% das amostras selecionadas para o estudo foram elegíveis, pois condições como as de coleta do material, transporte e armazenamento degradam o material. Dessa forma, tais bancos de amostras devem ser elaborados com o máximo de adequação às condições ideais para que possam cumprir com sua finalidade.

Os bancos de amostras biológicas (Biobancos) são, portanto, mediante rigoroso controle de qualidade, repositórios importantes para o desenvolvimento de pesquisas científicas. São exemplos nacionais o Banco de Tumores e Células do Hospital Israelita Albert Einstein, criado em 2016, e o Banco Nacional de Tumores (BNT), de iniciativa do Instituto Nacional de Câncer (INCA), órgão auxiliar

do Ministério da Saúde no desenvolvimento e coordenação das ações integradas para a prevenção e o controle do câncer no Brasil. Pode-se citar, ainda, a existência de bases de dados biológicos como o miRBase (<http://www.mirbase.org/>), de domínio público e que reúne, no momento, informações sobre 38.589 (trinta e oito mil quinhentos e oitenta e nove) miRNAs.

O trabalho de Moraes & Costa (2018) e o de Ferreira (2016), identificando miRNAs circulantes promissoras no diagnóstico e prognóstico de leucemia mieloide aguda e leucemia mieloide crônica em fase crônica, respectivamente. Observa-se a não correlação entre os miRNAs encontrados em maior expressão sérica entre os estudos de ambos autores. Assim, pode-se concluir que tais miRNAs podem vir a ser utilizados como biomarcadores para a distinção entre a LMA e LMC-FC.

Lopes (2019), abordando o câncer de mama (CM), pôde constatar, no plasma dos pacientes, a elevação da expressão tanto do incoMiR-210 quanto do supressor miR152, em comparação ao grupo controle. Todavia, mediante análise de fragmentos tumorais, o supressor miR152 apresentou-se com expressão diminuída, enquanto o miRNA incoMiR-210 também esteve elevado. Apresenta-se, assim, mais um exemplo de que a variação da expressão de miRNAs para uma mesma patologia ocorre a depender do tecido analisado, dado relevante no futuro desenvolvimento de protocolos de análises.

Cita-se, ainda, que o estudo de Assmann (2017), em sua revisão de literatura, e o estudo de caso de Costa (2018) encontraram no miR-29a-3p um possível biomarcador plasmático para doença renal do diabetes, visto que sua expressão apareceu diminuída em ambos estudos analisados.

No entanto, alguns estudos encontrados não permitiram identificar, com bom embasamento, miRNAs com potencial para serem utilizados como biomarcadores. O estudo de Marinho (2017), dessa forma, elencou as moléculas miR-1207-5P, miR-6887, miR-548a-3p, miR4530, miR-3157-3p e miR-1234-3p como possível biomarcadores para insuficiência cardíaca (IC), no entanto, o grupo amostral pequeno exige, para maior confiabilidade dos resultados, que novos estudos sejam promovidos.

Levando em conta a fase pré-analítica, miRNAs podem ser coletados de forma pouco invasiva, pois podem ser detectados em fluidos corporais. Por serem transportados por vesículas extracelulares ou proteínas (SCHUMANN, 2020), os

miRNAs se apresentam estáveis na corrente sanguínea (BOTTANI, BANFI & LOMBARDI, 2019), suportando bem variações de pH ou mesmo o congelamento e descongelamento repentinos, devendo a amostra de sangue ser colida em tubo contendo sais de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) acrescido de gel separador para melhores resultados referentes à miRNAs (BOTTANI; BANFI; LOMBARDI, 2019). Cita-se, ainda, que as tecnologias necessárias para averiguar a expressividade de miRNAs no sangue durante a fase analítica já existem; são elas a metodologia ouro, RT-qPCR, bem como o PCR comum, microarranjos, ou ainda a nova geração de sequenciamento (NGS). No entanto, vigora na fase pós-analítica um grande obstáculo para a implantação prática de exames baseados em análises de miRNAs em laboratórios: Não há protocolos e procedimentos padronizados, bem como faltam dados acerca da relação entre miRNAs e as patologias.

Pode-se encontrar no mercado um exemplo avançado de uso prático de miRNAs em análises clínica; é o caso do kit mir-THYpe, desenvolvido e validado pela startup ONKOS Diagnósticos Moleculares LTDA, em parceria com o Hospital de Câncer de Barretos, e baseado no estudo de Santos et al (2018). O produto visa a classificação de nódulos indeterminados da tireoide em até 15 dias, mediante a análise, por PCR, da expressão de 11 miRNAs e do uso de um algoritmo treinado para tal tarefa, valendo-se de inteligência artificial.

O estudo de Santos et al (2018), que embasou o desenvolvimento do produto, comparou os resultados apresentados pelo kit com os resultados obtidos, dos mesmos nódulos, por exames histológicos no pós-operatório, mediante punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dos nódulos tireoidianos. Ao fim, chegou-se aos seguintes resultados:

- Valor Preditivo Negativo (VPN) de 96%, ou seja, a probabilidade de um resultado “benigno” ser equivocado é de 4%;
- Valor Preditivo Positivo (VPP) de 76%, onde a probabilidade de um resultado “maligno” ser errado é de 24%;
- Sensibilidade é de 94.6%, significando que 5,4% das amostras “malignas” foram classificadas como “benignas”;
- Especificidade de 81%, o que significa que 19% das amostras classificadas como “benignas” foram classificadas como “malignas”.

Ressalta-se, ainda, que a análise dos conjuntos de miRNAs alterados em cada patologia, juntamente com a natureza das expressões alteradas nos respectivos tecidos (se hipoexpressões ou hiperexpressões), constituem mecanismo mais confiável para uso no auxílio em diagnósticos, a exemplo do kit mir-THYpe. Todavia, segundo SILVA (2018), a aplicação de miRNAs nesse tipo de análise ainda esbarra em desafios, como o custo técnico elevado para a verificação de miRNAs circulantes e o conhecimento ainda incompleto da atuação, origem ou mesmo dos processos de liberação extracelular dessas moléculas.

CONCLUSÃO

Os estudos apresentados pormenorizaram perfis de expressão de miRNAs em uma gama de patologias, indicando que os mesmos poderiam ser usados visando o diagnóstico. Contribui para tanto, o fato de serem moléculas estáveis na corrente sanguínea, de fácil detecção e de coleta pouco invasiva. Dessa forma, para que os testes sejam rápidos, efetivos e baratos, possibilitando a realização em larga escala, é preciso que sejam possíveis os métodos pouco invasivos de coleta, com análise voltada para miRNA circulantes, ou seja, focada na expressão sérica. Assim, tais moléculas podem vir a contribuir como ferramentas tanto no diagnóstico, como no prognóstico e na avaliação de terapias.

Todavia, o empacotamento de miRNAs e sua liberação na corrente sanguínea envolvem processos moleculares ainda não desvendados, constituindo percalço para o avanço de pesquisas visando o uso de miRNAs no diagnóstico clínico patológico. Ademais, é fator limitante atual para esse fim o custo técnico elevado para detecção dos miRNAs circulantes e a presença muito disseminada dos miRNAs na circulação sanguínea, exigindo, dessa forma, mais estudos.

REFERÊNCIAS DO ARTIGO

ASSMANN, Taís Silveira. **O envolvimento de microRNAs no diabetes mellitus tipo 1 e na doença renal do diabetes**. Orientador: Daisy Crispim Moreira. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Médicas: Endocrinologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/178987>. Acesso em: 16 set. 2021.

BOTTANI, M.; BANFI, G.; LOMBARDI, G. Circulating miRNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Common Solid Tumors: Focus on Lung, Breast, Prostate Cancers, and Osteosarcoma. **Journal of Clinical Medicine**. Basel, v. 8, n. 10, p. 1661-1742. Out. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6833074/>. Acesso em: 31 ago. 2021

COSTA, Aline Rodrigues. **Análise da Expressão do microRNA-29a-3p no Plasma De Pacientes com Doença Renal do Diabetes: UM ESTUDO DE CASO-CONTROLE**. Orientador: Daisy Crispim Moreira. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2018. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/204629>. Acesso em: 7 nov. 2021.

FERREIRA, Letícia Antunes Muniz. **Potenciais microRNAs circulantes como biomarcadores de Leucemia Mieloide Crônica - Fase Crônica: recém diagnosticada e tratada com mesilato de imatinibe**. Orientador: Célia Regina Nogueira. 2016. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, Botucatu, SP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/138171>. Acesso em: 6 set. 2021.

LEE, Rosalind C et al. The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. **Cell Press**, Cambridge, Massachusetts, v. 75, p. 843-854, 3 dez. 1993. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(93\)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(93)90529-Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue). Acesso em: 7 nov. 2021.

LOPES, Beatriz Camargo. **MiR-210 e miR-152 e suas proteínas-alvo como biomarcadores por biópsia líquida em câncer de mama**. Orientador: Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari. 2019. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, SP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/181192>. Acesso em: 31 ago. 2021

MARINHO, Raphael Costa. **MicroRNA como biomarcador na insuficiência cardíaca**. 2017. 47 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/2596>. Acesso em: 05 Abr. 2021.

MONNAKA, Vitor Ulisses et al. **Overview of miRNAs for the non-invasive diagnosis of endometriosis: evidence, challenges and strategies**. A systematic review. Einstein (São Paulo) [online]. 2021, v. 19 [Acessado 12 Outubro 2021]. Disponível em: <https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RW5704>. Epub 26 Abr 2021. ISSN 2317-6385. https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RW5704.

MORAIS, A. K. S. de; COSTA, A. P. R. da. Papel do Microrna na Regulação da Expressão Gênica e sua Associação com a Oncogênese: Biomarcadores para Leucemia Mielóide Aguda. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - PERNAMBUCO**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 53, 2018. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/facipesaude/article/view/5983>. Acesso em: 8 abr. 2021.

MOULATLET, Ana Carolina Bernardini. **MicroRNAs como biomarcadores no carcinoma papilífero de tireóide**: associação com mutações somáticas frequentes e significado biológico. 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Biotecnologia, University of São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-08052014-163253/en.php>. Acesso em: 8 abr. 2021.

NASCIMENTO, Linicene Rosa do; DOMINGUETI, Caroline Pereira. MicroRNAs: novos biomarcadores e alvos terapêuticos promissores da doença renal do diabetes. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 412-422, Sept. 2019. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-28002019005061901&script=sci_arttext&lng=pt. Acesso em: 08 Abr. 2021.

O'BRIEN, Jacob. **Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation**. 2018. York University, Toronto, ON, Canada. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00402/full>. Acesso em: 3 dez. 2021.

OLIVEIRA-CARVALHO, V.; CARVALHO, V. O.; SILVA, M. M.; GUIMARÃES, G. V.; BOCCHI, E. A. MicroRNAs: Um Novo Paradigma no Tratamento e Diagnóstico da Insuficiência Cardíaca? *Arq Bras Cardiol*, v. 98, n. 4, p. 362-370, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/cVqdGQRkJ7hL87q77Rr74Pm/?lang=pt>. Acesso em: 8 abr. 2021.

PAIVA, Rodrigo Minuto. **Avaliação de Micrornas como Biomarcadores Moleculares no Câncer de Próstata**. Orientador: Ilma Simoni Brum. 2020. Tese (Doutorado em Fisiologia) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/218110>. Acesso em: 28 ago. 2021.

PETRARCA, Cristiane Rios. **Expressão de microRNAs em amostras tumorais e linfonodais de câncer colorretal**. Orientador: Vinicius Duval da Silva e Rosângela Vieira de Andrade. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Porto Alegre, RS, 2016. Disponível em: <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/6805>. Acesso em: 31 ago. 2021.

Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. **Nature**. 2004;432(7014):226-30. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature03076>. Acesso em: 06 Abr. 2021

RICARTE FILHO, Júlio C.M.; KIMURA, Edna Teruko. MicroRNAs: nova classe de reguladores gênicos envolvidos na função endócrina e câncer. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 50, n. 6, p. 1102-1107, Dec. 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302006000600018&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 05 Abr. 2021.

RODE, Michele Patricia. Perfil **de expressão de microRNAs nos exossomos derivados de linhagens de câncer de próstata**: prospecção de biomarcadores. 2019. Tese (Doutorado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/211515>. Acesso em: 28 ago. 2021.

Romaine SPR, Tomaszewski M, Condorelli G, et AL. **MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians Heart**. 2015;101:921-928. Disponível em: <https://heart.bmj.com/content/101/12/921>. Acesso em: 05 Abr. 2021.

SALDARRIAGA, Magda Elizabeth Graciano. **Pesquisa de miRNAs circulantes, potenciais biomarcadores de aterosclerose subclínica em indivíduos euglicêmicos e pré-diabéticos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-24052017-161009/en.php>. Acesso em: 2021-04-08.

SANTOS MTD, Buzolin AL, Gama RR, Silva ECAD, Dufloth RM, Figueiredo DLA, Carvalho AL. **Molecular Classification of Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology**: Development and Validation of a Highly Sensitive and Specific New miRNA-Based Classifier Test Using Fine-Needle Aspiration Smear Slides. *Thyroid*. Dez. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6308280/>. Acesso em: 06 Abr. 2021.

SCHUMANN, ANA LUIZA Peixoto. **Aspectos Epigenéticos do Câncer de Mama**: Revisão Bibliográfica dos Mecanismos Envolvidos na Carcinogênese Mamária e Biomarcadores para a sua Detecção Precoce. Orientador: Paulo Roberto Martins Queiroz. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília, 2020. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/14724/1/Ana%20Luiza.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2021.

SILVA, C. M. S. **Assinatura de microRNAs circulantes (hsa-let-7e-5p, hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-28-3p e hsa-miR-542-5p) como promissores biomarcadores para o diagnóstico precoce de câncer colorretal**. 2019. 95 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza,

2019. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/43228>. Acesso em: 06 Abr. 2021.

SILVA, Debora Cristina Pereira da et al . Papel dos miRNAs na Fisiopatologia das Doenças Cardiovasculares. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 111, n. 5, p. 738-746, Nov. 2018 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2018001700738&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 06 Abr. 2021.

REFERÊNCIAS GERAIS

ASSMANN, Taís Silveira. **O envolvimento de microRNAs no diabetes mellitus tipo 1 e na doença renal do diabetes**. Orientador: Daisy Crispim Moreira. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Médicas: Endocrinologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/178987>. Acesso em: 16 set. 2021.

BOTTANI, M.; BANFI, G.; LOMBARDI, G. Circulating miRNAs as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Common Solid Tumors: Focus on Lung, Breast, Prostate Cancers, and Osteosarcoma. **Journal of Clinical Medicine**. Basel, v. 8, n. 10, p. 1661-1742. Out. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6833074/>. Acesso em: 31 ago. 2021

COSTA, Aline Rodrigues. **Análise da Expressão do microRNA-29a-3p no Plasma De Pacientes com Doença Renal do Diabetes: UM ESTUDO DE CASO-CONTROLE**. Orientador: Daisy Crispim Moreira. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2018. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/204629>. Acesso em: 7 nov. 2021.

FERREIRA, Letícia Antunes Muniz. **Potenciais microRNAs circulantes como biomarcadores de Leucemia Mieloide Crônica - Fase Crônica: recém diagnosticada e tratada com mesilato de imatinibe**. Orientador: Célia Regina Nogueira. 2016. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO", Botucatu, SP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/138171>. Acesso em: 6 set. 2021.

ISCAIFE, Alexandre. **O uso de microRNA para tratamento do câncer de próstata: estudos in vitro e in vivo**. 2016. Tese (Doutorado em Urologia) - Faculdade de Medicina, University of São Paulo, São Paulo, 2016. doi Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5153/tde-22082016-104926/publico/Alealexandreiscaife.pdf>. Acesso em: 2021-04-07.

LEE, Rosalind C et al. The *C. elegans* Heterochronic Gene *lin-4* Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to *lin-14*. **Cell Press**, Cambridge, Massachusetts, v. 75, p. 843-854, 3 dez. 1993. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(93\)90529-](https://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(93)90529-)

Y.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F009286749390529Y%3Fshowall%3Dtrue. Acesso em: 7 nov. 2021.

LOPES, Beatriz Camargo. MiR-210 e miR-152 e suas proteínas-alvo como biomarcadores por biópsia **líquida em câncer de mama**. Orientador: Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari. 2019. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto, SP. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/181192>. Acesso em: 31 ago. 2021

MARINHO, Raphael Costa. **MicroRNA como biomarcador na insuficiência cardíaca**. 2017. 47 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís. Disponível em: <https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/2596>. Acesso em: 05 Abr. 2021.

MONNAKA, Vitor Ulisses et al. **Overview of miRNAs for the non-invasive diagnosis of endometriosis: evidence, challenges and strategies**. A systematic review. Einstein (São Paulo) [online]. 2021, v. 19 [Acessado 12 Outubro 2021]. Disponível em: <https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RW5704>. Epub 26 Abr 2021. ISSN 2317-6385. https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2021RW5704.

MORAIS, A. K. S. de; COSTA, A. P. R. da. Papel do Microrna na Regulação da Expressão Gênica e sua Associação com a Oncogênese: Biomarcadores para Leucemia Mielóide Aguda. **Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - PERNAMBUCO**, [S. l.], v. 3, n. 3, p. 53, 2018. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/facipesaude/article/view/5983>. Acesso em: 8 abr. 2021.

MOULATLET, Ana Carolina Bernardini. **MicroRNAs como biomarcadores no carcinoma papilífero de tireóide**: associação com mutações somáticas frequentes e significado biológico. 2014. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Biotecnologia, University of São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-08052014-163253/en.php>. Acesso em: 8 abr. 2021.

NASCIMENTO, Linicene Rosa do; DOMINGUETI, Caroline Pereira. MicroRNAs: novos biomarcadores e alvos terapêuticos promissores da doença renal do diabetes. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 412-422, Sept. 2019. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-28002019005061901&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 08 Abr. 2021.

O'BRIEN, Jacob. **Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation**. 2018. York University, Toronto, ON, Canada. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2018.00402/full>. Acesso em: 3 dez. 2021.

OLIVEIRA-CARVALHO, V.; CARVALHO, V. O.; SILVA, M. M.; GUIMARÃES, G. V.; BOCCHI, E. A. **MicroRNAs: Um Novo Paradigma no Tratamento e Diagnóstico da Insuficiência Cardíaca?** Arq Bras Cardiol, v. 98, n. 4, p. 362-370, 2012.

Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/cVqdGQRkJ7hL87q77Rr74Pm/?lang=pt>. Acesso em: 8 abr. 2021.

PAIVA, Rodrigo Minuto. **Avaliação de Micrornas como Biomarcadores Moleculares no Câncer de Próstata**. Orientador: Ilma Simoni Brum. 2020. Tese (Doutorado em Fisiologia) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/218110>. Acesso em: 28 ago. 2021.

PETRARCA, Cristiane Rios. **Expressão de microRNAs em amostras tumorais e linfonodais de câncer colorretal**. Orientador: Vinicius Duval da Silva e Rosângela Vieira de Andrade. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS, Porto Alegre, RS, 2016. Disponível em: <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/6805>. Acesso em: 31 ago. 2021.

Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. **Nature**. 2004;432(7014):226-30. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature03076>. Acesso em: 06 Abr. 2021

RICARTE FILHO, Júlio C.M.; KIMURA, Edna Teruko. MicroRNAs: nova classe de reguladores gênicos envolvidos na função endócrina e câncer. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 50, n. 6, p. 1102-1107, Dec. 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302006000600018&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 05 Abr. 2021.

RODE, Michele Patricia. **Perfil de expressão de microRNAs nos exossomos derivados de linhagens de câncer de próstata: prospecção de biomarcadores**. 2019. Tese (Doutorado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/211515>. Acesso em: 28 ago. 2021.

Romaine SPR, Tomaszewski M, Condorelli G, et AL. **MicroRNAs in cardiovascular disease: an introduction for clinicians Heart**. 2015;101:921-928. Disponível em: <https://heart.bmj.com/content/101/12/921>. Acesso em: 05 Abr. 2021.

SALDARRIAGA, Magda Elizabeth Graciano. **Pesquisa de miRNAs circulantes, potenciais biomarcadores de aterosclerose subclínica em indivíduos euglicêmicos e pré-diabéticos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, University of São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9136/tde-24052017-161009/en.php>. Acesso em: 2021-04-08.

SANTOS MTD, Buzolin AL, Gama RR, Silva ECAD, Dufloth RM, Figueiredo DLA, Carvalho AL. **Molecular Classification of Thyroid Nodules with Indeterminate Cytology: Development and Validation of a Highly Sensitive and Specific New miRNA-Based Classifier Test Using Fine-Needle Aspiration Smear Slides**. *Thyroid*.

Dez. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6308280/>. Acesso em: 06 Abr. 2021.

SCHUMANN, ANA LUIZA Peixoto. **Aspectos Epigenéticos do Câncer de Mama: Revisão Bibliográfica dos Mecanismos Envolvidos na Carcinogênese Mamária e Biomarcadores para a sua Detecção Precoce**. Orientador: Paulo Roberto Martins Queiroz. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília, 2020. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/14724/1/Ana%20Luiza.pdf>. Acesso em: 11 ago. 2021.

SILVA, C. M. S. **Assinatura de microRNAs circulantes (hsa-let-7e-5p, hsa-miR-106a-5p, hsa-miR-28-3p e hsa-miR-542-5p) como promissores biomarcadores para o diagnóstico precoce de câncer colorretal**. 2019. 95 f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019. Disponível em: <http://repositorio.ufc.br/handle/riufc/43228>. Acesso em: 06 Abr. 2021.

SILVA, Debora Cristina Pereira da et al . Papel dos miRNAs na Fisiopatologia das Doenças Cardiovasculares. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 111, n. 5, p. 738-746, Nov. 2018 . Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2018001700738&Ing=en&nrm=iso. Acesso em: 06 Abr. 2021.

ANEXO A - NORMAS DA REVISTA

NORMAS PARA A PUBLICAÇÃO DE ARTIGOS - REVISTA F@PCIÊNCIA

Os artigos encaminhados serão submetidos à avaliação de até três consultores, especialistas na área atinente à temática do artigo, e a aprovação do Comitê Editorial da F@P CIÊNCIA, com base nas Normas Próprias de Publicação da Revista Eletrônica.

O ISSN da revista eletrônica é 1984-2333 e o título abreviado é **F@P Cien.**, forma que deve ser usada em bibliografias, notas de rodapé, referências e legendas bibliográficas.

Serão aceitos trabalhos para as seguintes seções:

- (1) **Revisão** – revisão da literatura;
- (2) **Artigos** – resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (mínimo de 05 e o máximo de 12 laudas);
- (3) **Notas** – nota prévia, relatando resultados parciais ou preliminares de pesquisa; (4) **Resenhas** – resenha crítica de livro (As Resenhas poderão ter no máximo três páginas e deverão tratar de livros publicados nos últimos 05 anos);
- (5) **Fórum** – seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual.

Os autores devem submeter os manuscritos no formato eletrônico, exclusivamente, por meio do endereço fapciencia@fap.com.br, já configurados para o papel A4, observando as seguintes indicações do arquivo:

- **salvo** em modo “doc” ou “rtf”;
- **margens** sup/esq de 3 cm e inf/dir de 2 cm;
- **fonte** Arial 12 no corpo do texto. (Em nota de rodapé, a fonte é Times New Roman 10, alinhada à esquerda);
- **espaçamento** entre linhas de 1,5 cm.

Os textos deverão ser escritos em português e as figuras, gráficos e tabelas, se necessários, devem ser incluídos diretamente no texto no formato JPG, JPEG ou GIF, nos locais adequados e não em anexo, seguindo as normas da ABNT. Veja modelo no [Guia de Normas Trabalhos Acadêmicos](#), no site da FAP

Na primeira página figurará:

1) **Título do trabalho** (Arial, tamanho 12, negrito, centralizado e caixa alta, sem ponto final);

2) **Autoria** (graduando e orientador – um abaixo do outro (apenas o autor graduando sublinhado), alinhados à direita, fonte arial 12, primeiro sobrenome por extenso em caixa alta, vírgula, nome com a abreviação das iniciais, indicando numeração de referência com especificação em nota de rodapé);

Exemplo:

**O USO DA REALIDADE VIRTUAL COMO RECURSO FISIOTERAPÊUTICO
EM PACIENTE COM PARALISIA CEREBRAL: ESTUDO DE CASO**

PARRA, R. R. G. ¹

ANDOLFATO, K. R.²

ARREBOLA, M.S. ³

3) **Nota de rodapé** na nota constará a descrição do(s) autor(es): nome completo por extenso, instituição a que pertence, fonte financiadora (quando necessário), ano, e email de contato (fonte 10, Times New Roman, alinhado à esquerda, espaçamento simples);

Exemplo:

¹ Raquel Ribas Gallo Parra. Graduanda do Curso de Fisioterapia da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2019. Contato: raquel.ribas96@hotmail.com

² Kleber Rogério Andolfato. Orientador da pesquisa. Coordenador e Docente do Curso de Fisioterapia da Faculdade de Apucarana – FAP. Apucarana – Pr. 2019. Contato: kleber.andolfato@fap.com.br

³ Mayenne Souza Arrebola. Coorientadora da pesquisa. Preceptora do Curso de Fisioterapia da

4) **Resumo e Abstract** (as palavras RESUMO e ABSTRACT são em negrito, arial 12, maiúsculas e alinhadas à esquerda; já o texto deve ser em fonte arial, sem negrito, tamanho 12, conter de 100 a 250 palavras, e ter de 3 a 5 palavras-chave separadas por ponto, com as iniciais em maiúsculo (NBR 6022));

Exemplo:

RESUMO

A Paralisia Cerebral (PC) é um grupo de desorganizações, considerado distúrbio não progressivo, que ocorre durante a formação encefálica fetal ou na infância, interferindo no desenvolvimento motor e postural. A Realidade Virtual (RV) é um recurso em que o paciente interage com diversos estímulos, auditivos, sensoriais, visuais e táteis. O objetivo do estudo foi analisar a influência da RV no equilíbrio, coordenação motora e melhora da funcionalidade, foram realizadas 20 sessões com a RV XBOX® 360 Kinect, utilizando como instrumentos de avaliação inicial e final, a Escala de Equilíbrio de Berg, Timed Up & Go (TUG), Testes de Coordenação Motora, Toques no Andador e Pontuação do jogo. Houve melhora significativa da avaliação inicial para final, exceto na Escala de Berg. Conclui-se que este recurso foi eficaz na reabilitação da marcha, equilíbrio, coordenação e aprendizagem motora da participante.

Palavras-chave: Realidade Virtual. Paralisia Cerebral. Equilíbrio. Coordenação Motora. Fisioterapia.

ABSTRACT

Cerebral Palsy (CP) is a group of disorganizations considered non-progressive disorder that occurs during fetal brain formation or in childhood, interfering with motor and postural development. Virtual Reality (VR) is a resource which the patient interacts with various stimuli, auditory, sensory, visual and tactile. The aim of the study was to analyze the influence of VR on balance, motor coordination and improvement of functionality. Twenty sessions were performed by VR XBOX® 360 Kinect, using as initial and final evaluation the Berg Balance Scale, Timed Up & Go (TUG), Motor Coordination Tests, Walker Touches, and Game Score. There was a significant improvement from initial to final assessment, except for the Berg Scale. It was concluded that this resource was effective in the participant's gait rehabilitation, balance, coordination and motor learning.

Keywords: Virtual Reality. Cerebral palsy. Balance. Motor coordination. Physiotherapy.

Os textos destinados a seção de Artigos devem impreterivelmente apresentar os tópicos: **INTRODUÇÃO, OBJETIVOS, METODOLOGIA, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONCLUSÃO E REFERÊNCIAS.** Estes tópicos não são numerados, a fonte é arial, tamanho 12 e deve ser em caixa alta. A introdução e objetivos podem vir de forma separada ou conjunta, bem como os resultados e discussão. Se necessárias alterações de pequena monta serão realizadas pelo Conselho Editorial visando adequação às normas e melhoria do texto.

Exemplo da disposição dos tópicos (meramente ilustrativos)

As **citações** de autores no corpo do texto subordinar-se-ão às Normas Técnicas da ABNT – NBR 10520. Lembrando que é obrigatória a menção do número de página quando se tratar de citação direta.

Exemplos:

-Citação com um autor:

(MARTINS, 1980, p. 17)	ou	Martins (1980, p. 17)
-Quando se tratar de até três autores, todos serão citados:		
(MARTINS; DUTRA; SOUZA, 1981)	ou	Martins, Dutra e Souza (1981)

-Quando a citação for com mais de três autores citar o primeiro seguido de et al.:

(MARTINS <i>et al.</i> , 1980)	ou	Martins <i>et al.</i> (1980)
--------------------------------	----	------------------------------

-Quando o autor é uma instituição:

(INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 1986, p. 35)	ou	Instituto Brasileiro de Geografia e estatística (1986, p. 35)
--	----	---

-Sem autoria: a referência entra pelo título da obra, sendo a primeira palavra em maiúsculo, já na citação fica:

(A ECONOMIA [...], 2018)

-Aos diferentes títulos de um autor publicados no mesmo ano, adiciona-se uma letra depois da data:

[(BRAGA, 2017a) e (BRAGA, 2017b) ou Braga (2017a) e Braga (2017b)]

As referências documentárias no final do texto devem seguir as Normas Técnicas da ABNT. Veja modelo no Guia de Normas Trabalhos Acadêmicos, de Ilma A. F. Serrante, no site da FAP.

Observação: Os textos apresentados no artigo são de inteira responsabilidade de seus autores, tanto em relação ao conteúdo quanto à questão de revisão gramatical e normas.