

Estenose de válvula aórtica e os microRNAs: o potencial papel dos futuros biomarcadores de lesão de doença valvar cardíaca.**Aortic valve stenosis and microRNAs: the potential role of future biomarkers of cardiac valve disease injury.**

Recebimento dos originais: 06/02/2019

Aceitação para publicação: 20/03/2019

Javé Oliveira Valdeviño

Graduando em medicina pelo Centro Universitário São Camilo

Instituição: Centro universitário São Camilo

E-mail: jave.valdevino@gmail.com

Mario Antonio Raimundo Neto

Graduando em medicina pelo Centro universitário São Camilo

Instituição: centro universitário são Camilo

Endereço: Rua Flávio Iazzetti, 07 - butantã, Cidade São Paulo- SP, Brasil

E-mail: marioraneto@yahoo.com.br

Luiz Henrique Venturi de S.Ferreira

Estudante de medicina

Universidade Santo Amaro

Instituição: Unisa

Endereço: Av. Brigadeiro Luis Antônio, 1884 - Bela Vista, Cidade São Paulo- SP, Brasil

Email: luizhhventuri@hotmail.com

Isadora Avila

Granduandaem medicina Centro Universitário São Camilo

Centro Universitário São Camilo

Rua Tenente Otávio Gomes, 343, apto 11B, Aclimação, São Paulo- SP, Brasil

isadoraavila27@hotmail.com

Lívia da Mata Lara

Médica

Centro Universitário São Camilo

Endereço: Rua Irmã Carolina, 50 - Belenzinho, São Paulo, SP

E-mail: lmatalara@gmail.com

Gabriela Menichelli Medeiros Coelho

Médica

Centro Universitário São Camilo

Endereço: Av Coronel José Pires de Andrade, 845, apto 45, São Paulo, SP

E-mail: gabrielamenichelli@hotmail.com

Marcelo Ferraz Sampaio

Doutor em ciências pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Cardiologista pelo Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

RESUMO

Introdução a estenose valvar aórtica (eao) corresponde a uma das principais causas de morbimortalidade e não possui terapias médicas eficazes, entretanto, a identificação de novas vias moleculares associada aos mirnas são os novos potenciais alvos da farmacoterapia já nos estágios iniciais da doença, ampliando as possibilidades terapêuticas. Os micrnas estão envolvidos na maioria das funções celulares e são moléculas de rna pequenas regulatórias e não codificantes. Objetivo: caracterizar a função dos micrnas na fisiopatologia da eao, bem como possível papel como marcadores prognósticos dessa patologia. Metodologia trata-se de uma revisão de literatura realizada a partir da busca de publicações indexadas nas bases de dados lilacs, scielo e medical literature and retrieval system online (medline), esta última através da interface pubmed. Utilizou-se os operadores booleanos “and” e “or”, e os seguintes descritores de busca: “estenose aórtica”, “micrna”, “calcificação” e “biomarcadores”. Através das opções de busca avançada, foram selecionados trabalhos publicados nos últimos cinco 5 anos (2012 a 2017), em todos idiomas. De 53 artigos selecionados, apenas 25 foram utilizados. Os artigos excluídos abordavam doenças cardíacas como cardiomiopatia hipertrófica e aterosclerose, ou então, não utilizaram tecidos humanos. Resultado e discussão a eao refere-se a um processo esclerótico o qual se manifesta progressivamente através de inflamação, calcificação das lesões e degradação da matriz extracelular com consequente fibrose valvar. A calcificação da válvula aórtica tem um impacto clínico significativo, justamente pelo possível potencial de evolução para estenose valvar e se sem intervenção, implica em hipertrofia ventricular resultando em última análise em insuficiência cardíaca e morte. Atualmente, a substituição da válvula aórtica, cirúrgica ou transcáteter, é a única terapia eficaz para o tratamento, porém são adiadas até os estágios tardios da doença. Devido a essa situação, as terapias de próxima geração são necessárias para melhorar o desfecho e a qualidade de vida do paciente, visando os estágios iniciais do desenvolvimento da doença antes da calcificação valvar se tornar irreversível. Logo, devido à essa questão clínica, uma nova variável começou a ser considerada visto que estão associados à patogênese e à processos osteogênicos responsáveis pela calcificação da válvula - os micrnas, os quais são estudados para oferecer um novo tratamento não invasivo para os pacientes no estágio inicial da doença evitando, assim, a sua progressão. A ação e relação de certos mirnas com a estenose valvar como descritos na tabela 1 podem sugerir e sinalizar processos patológicos envolvidos na patogenia da eao funcionando como sinalizadores de calcificação como os mirna214, mirna125b; sinalizadores de formação de placa aterosclerótica como mirna155, mirna222, mirna424, mirna503 entre outros. Além disso, alguns deles estão relacionados à inibição desse processo patológico como o mirna125a, mirna155, mirna146a e mirna33 que evitam o acúmulo de lipídeos e o mirna26a, mirna30b e mirna141 que neutralizam a calcificação da válvula. Sendo assim, esses processos envolvem regulação coordenada de indutores e inibidores da calcificação, muitas vezes influenciados pela superexpressão ou expressão inibida de certos mirnas com mecanismos precisos ainda estão malelucidados. Logo, o avanço de pesquisas nessa área podem revolucionar o tratamento da eao além de reduzir os fatores de risco para outras doenças como por exemplo o infarto agudo do miocárdio. Conclusão as perspectivas mostram um grande desafio na identificação de biomarcadores de mirna nos diferentes estágios da estenose aórtica. Alguns micrnas apresentam grande potencial para avaliação de gravidade de progressão patológica, já outros serviriam na monitorização de eventos pós-operatórios, associados a exames de imagens. Os estudos apresentaram os micrnas como

novas vias terapêuticas, entretanto, uma grande barreira encontra-se nas diferenças entre as expressões moleculares dos pacientes, além de gastos ainda dispendiosos. Nesse aspecto, os micrornas surgiriam em um contexto de tratamento muito mais personalizado, conforme as expressões moleculares individualizadas para *down-*, *upregulation* dos biomarcadores na doença valvar aórtica

Palavras-chaves: AorticValveStenosis; MicroRNAs; Biomarkers; Calcification.

ABSTRACT

Introduction Aortic valve stenosis (aortic stenosis) is one of the main causes of morbidity and mortality and does not have effective medical therapies, however, the identification of new molecular pathways associated with mirnae are the new potential targets of pharmacotherapy in the early stages of the disease. Microbes are involved in most cellular functions and are small regulatory and non-coding rna molecules. **Purpose:** To characterize the function of micrornas in the pathophysiology of the disease, as well as possible role as prognostic markers of this pathology. **Methodology** a review of literature based on the search of indexed publications in the databases lilacs, scielo and medical literature and retrieval system online (medline), the latter through the pubmed interface. We used the Boolean operators "and" and "or", and the following search descriptors: "aortic stenosis", "microrna", "calcification" and "biomarkers". Through the advanced search options, papers published in the last five 5 years (2012 to 2017) were selected in all languages. Of 53 articles selected, only 25 were used. The excluded articles addressed cardiac diseases such as hypertrophic cardiomyopathy and atherosclerosis, or they did not use human tissues. **Results and discussion** a and a refers to a sclerotic process which progressively manifests itself through inflammation, calcification of the lesions and degradation of the extracellular matrix with consequent valvar fibrosis. Calcification of the aortic valve has a significant clinical impact, precisely because of the potential for evolution to valvular stenosis and, if without intervention, implies in ventricular hypertrophy resulting in heart failure and death. Currently, the replacement of the aortic valve, surgical or transcatheter, is the effective therapy for treatment, but are postponed until the late stages. . Because of this situation, next-generation therapies are needed to improve patient outcome and quality of life by targeting the early stages of disease development before valve calcification becomes reversible. Therefore, due to this clinical question, a new variable has started to be considered since they are associated with the pathogenesis and the process osteogens responsible for calcification of the valve - the micrornas, which have been studied to offer a new non-invasive treatment for the patients and in the initial stage of the disease thus avoiding its progression. The relation action of certain mirrors with valvar stenosis as described in Table 1 may suggest and signal pathological processes involved in the pathogenesis of effusion as signs of calcification as mirna214, mirna125b; atherosclerotic plaque formation flags comomirna155, mirna222, mirna424, mirna503 and others. In addition, some of them are related to the inhibition of this pathological process, such as omirna, mirna, mirna, and mirna, which prevent the accumulation of delipids and mirna26a, mirna30b and mirna141 that neutralize valve calcification. Thus, these processes involve coordinated regulation of calcification inducers, often influenced by overexpression and the inhibition of certain mirrors with precise mechanisms that are still malelucidated. Therefore, advances in research in this area can revolutionize the treatment of the disease and reduce the risk factors for other diseases such as acute myocardial infarction. **Conclusion** the perspectives show a great challenge in the identification of mirna biomarkers in the different stages of aortic stenosis. Some micrornas present great potential for evaluating the severity

of pathological progression, while others may serve to monitor postoperative events associated with imaging tests. The studies presented the micrnas as new therapeutic routes, however, a great barrier is found in the differences between the molecular expressions of the patients, in addition to expenses still expensive. In this regard, micrnas would arise in a much more personalized treatment context, according to the independent molecular expressions for down-, upregulation of biomarkers in aortic valve disease.

Keywords: Aortic Valve Stenosis; MicroRNAs; Biomarkers; Calcification.

1 INTRODUÇÃO

A estenose de válvula aórtica refere-se à um processo esclerótico o qual se manifesta progressivamente através de inflamação, calcificação das lesões e degradação da matriz extracelular com consequente fibrose valvar. Porém, sabe-se que a calcificação predomina principalmente em estágios mais avançados de estenose, contribuindo para o estreitamento da válvula. Logo, para categorizar o estágio da lesão, pode-se dividir em duas etapas: (1) a fase de iniciação precoce associada à esclerose aórtica, relacionada ao acúmulo de lipídios, inflamação e calcificação e (2) a fase de propagação posterior, associada à estenose aórtica mais avançada, tornando a válvula muito rígida.

A calcificação da valva aórtica tem um impacto clínico significativo, justamente pelo possível potencial de evolução para estenose valvular sem intervenção, implica em hipertrofia ventricular resultando em última análise em insuficiência cardíaca e morte. Além disso, nos estágios avançados da doença pode ser detectado soprosistólico no exame físico ou no ecocardiograma.

De acordo com Li et al. (2016), atualmente esta é a forma mais comum de doença valvar adquirida e a terceira principal causa de doença cardíaca nos adultos. Além disso, como demonstrado no estudo de Monica-KORA (LÖWEL et al., 2005) com adultos entre 35 e 84 anos, a prevalência da doença aumenta com a idade, sendo de 7% na faixa etária entre os 35 e 44 anos, para 65% nos 75 e 84 anos. A prevalência é ainda maior em idade mais avançada, sendo 35% entre 75 e 84 anos e cerca de 50% das pessoas com mais de 80 anos.

Entretanto, a frequência relativa das causas da estenose aórtica (EA) varia geograficamente. Em todo o mundo, a doença valvar reumática é mais comum e o envolvimento valvar mitral acompanha invariavelmente a doença da válvula aórtica reumática. Já na América do Norte e Europa, a doença valvar aórtica é principalmente devido à calcificação de uma válvula tricúspide nativa ou de uma válvula congênita bicúspide.

Atualmente, a substituição da válvula aórtica, cirúrgica ou transcáteter, é a única terapia eficaz para o tratamento, de modo que o desenvolvimento de terapias de próxima geração são

necessárias para melhorar o desfecho e a qualidade de vida do paciente, visando os estágios iniciais do desenvolvimento da doença antes da calcificação valvar se tornar irreversível.

Porém são adiadas até os estágios tardios da doença. Devido a essa situação, as terapias de próxima geração são necessárias para melhorar o desfecho e a qualidade de vida do paciente, visando os estágios iniciais do desenvolvimento da doença antes da calcificação valvar se tornar irreversível. Tendo em vista este objetivo, passou-se a considerar a possibilidade de identificação e intervenção sobre fatores associados a patogênese e à processos osteogênicos responsáveis pela calcificação da válvula. Neste contexto, o entendimento acerca dos miRNAs, dadas suas funções, podem possibilitar um novo tratamento não invasivos para os pacientes no estágio inicial da doença, evitando, assim, a sua progressão. A ação e relação de certos mRNAs com a estenose valvar como descritos na tabela 1 podem sugerir e sinalizar processos patológicos envolvidos na patogênese da EA funcionando como sinalizadores de classificação.

Os MicroRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas de RNA, não codificantes, regulatórias, compostas de 18 a 22 nucleotídeos. São codificados principalmente por íntrons, e regulam a expressão de certas proteínas basicamente por duas vias, inibindo a tradução ou degradando o RNA correspondente. Na ciência médica moderna estima-se que um miRNA regula de 1 a 2 terços do genoma humano [1w], dessa forma, demonstra-se o quão relevante se tornam na compreensão das patologias. Os miRNAs estão envolvidos na maior parte das funções celulares, tais como proliferação, crescimento, diferenciação, transdução de sinais, apoptose, metabolismo e idade celular.

A calcificação vascular, ou seja, a deposição aberrante de cristais de fosfato de cálcio na parede do vaso, também está sob influência dessas moléculas, cuja contribuição relaciona-se a morbidade e mortalidade cardiovascular entre pacientes com insuficiência renal crônica, aterosclerose e diabetes mellitus. Evidências convincentes demonstraram que a calcificação vascular é uma forma altamente regulada de biomineralização assemelhando-se à modelagem óssea, ao invés de simples deposição de cálcio passivo. Estes processos envolvem regulação coordenada de indutores e inibidores da calcificação, muitas vezes influenciados pela superexpressão ou expressão inibida de certos miRNAs, mas os mecanismos precisos ainda estão mal elucidados.

No estudo de Heath et al. (2017), por exemplo, diversos micro-RNAs foram estudados e o microRNA-181b foi grandemente destacado e associado à doença. Este contribuiu para o aumento da fibrose nas células endoteliais da válvula aórtica humana, junto com TIMP3,

SIRT1 e GATA6 visto que são fatores relacionados ao aumento da atividade das enzimas gelatinase e metaloproteinases de matriz (MMP), responsáveis pela degradação da junção derme-epiderme, fibras de colágeno III, microfibrilas e fibras elásticas que contribuem para a degradação da valva. Sendo assim, visto que a estenose valvar aórtica (AS) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade e não possui terapias médicas eficazes, a identificação dessas novas vias moleculares associada aos miRNAs são alvos potenciais para a farmacoterapia, atuando nos estágios iniciais da doença, evitando que o tratamento da doença seja apenas cirúrgico como é atualmente.

Tendo em vista os fatos discutidos acima visamos informar a função dos microRNAs na fisiopatologia da EAo, bem como possível papel como marcadores prognósticos dessa patologia.

Para isso foi realizado no presente estudo uma revisão da literatura a partir da busca de publicações indexadas nas bases de dados Lilacs, Scielo e Medical Literature and Retrieval System on Line (Medline), sendo esta última abordada através da interface PubMed. Foram utilizados os operadores booleanos “and” e “or”, e utilizaram-se os seguintes descritores de busca: “Estenose aórtica”, “microRNA”, “calcificação” e biomarcadores”. Em seguida nas opções de busca avançada foram selecionados trabalhos publicados nos últimos cinco anos (2012 a 2017), em todos idiomas. Foram encontrados 53 artigos dos quais apenas 25 foram utilizados, pois foi utilizado como critério de exclusão artigos que abordavam outras doenças cardíacas como cardiomiopatia hipertrófica e aterosclerose, além desse critério de exclusão também excluímos artigos que não utilizaram tecidos humanos.

2 RESULTADOS

Dos miRNA estudados relacionou-se à inflamação e formação de placa aterosclerótica o miR126: inibidor da VCAM-1; miR155, miR222, miR424, miR503, miR9, miR17, miR20a, miR106: diferenciam monócitos em macrófagos na placa aterosclerótica; miR125a, miR146a, miR33 e miR155: inibem o acúmulo de lipídeos; miR125b: diferencia células do músculo liso vascular em osteoblastos. Quanto a diferenciação pró-osteogênica o miR214 agiu na patogênese da valva aórtica e na formação óssea. Relacionou-se a remodelação estrutural em estenose valvar severa a família miR21, principalmente, o miR21-5p: associado à fibrose miocárdica. O miR125b e o miR30c em *upregulation* agem nos macrófagos e induzem a ossificação heterotópica. O miR939, miR602, miR373b, miR106a, miR148a, miR204, miR31, miR424 em *downregulation* associam-se à progressão da estenose da válvula aórtica. O

miR148a-3p age aumentando o IKBKB reprimindo a sinalização do NFkB. O miR106a, miR204, miR211, miR30a, miR31 e o miR424 em *downregulation* estão associados à osteogênese de células mesenquimatosas e células estromais da medula óssea. Já os miR26a, miR30b, miR141, miR148a-3p: neutralizam a calcificação da válvula. Observou-se que o miR122-5p tende a inibir a oxidação de ácidos graxos e promove biossíntese de triglicerídeos. Acerca do mir210, sabe-se que seu alto índice em pacientes com estenose aórtica está associado a alta mortalidade. O mir30b: bloqueia a ação osteoblástica e apoptótica, age reduzindo a estenose com expressão aumentada de Runx2, osteocalcina e caspase-3

Tabela 1 - Ação e relação dos miRNAs na estenose da valva aórtica

miRNA	Ação	Relação
miR126	Inibidor da VCAM-1	
miR155, miR222, miR424, miR503, miR9, miR17, miR20a, miR106	Diferenciação de monócitos em macrófagos na placa aterosclerótica	Inflamação e formação da placa aterosclerótica.
miR125a, miR155 miR146a, miR33	Inibidor do acúmulo de lipídeos	
miR125b	Diferenciação das células musculares vasculares lisas em osteoblastos	
miR214	Atua na patogênese e na formação óssea da valva aórtica	Diferenciação pró-osteogênica
Família miR21, (principal: miR21-5p)	Processo de fibrose do miocárdio	Remodelação estrutural em estenose valvar severa
miR125b e o miR30c	Reprime a sinalização do NFkB	Upregulation
miR106a, miR204, miR211, miR30a, miR31, miR424	Associados à osteogênese de células mesenquimatosas e células estromais da medula óssea	

miR26a, Neutralizam a calcificação
 miR30b, miR141, da válvula
 miR148a-3p Downregulation

mir30b Bloqueia a ação
 osteoblástica e apoptótica, atua na
 redução da estenose com
 expressão aumentada de Runx2,
 osteocalcina e caspase-3

Fontes: dados da pesquisa

Dessa forma podemos observar que ainda há muito o que se descobrir em relação a identificação de miRNAs em diferentes estágios da Estenose aórtica. Além de se mostrar um dos grandes desafios da atualidade alguns microRNAs já tem apresentado grande potencial para avaliação de gravidade de progressão patológica, outros apresentaram potencial na monitorização de eventos pós-operatórios, quando associados a exame de imagem. Existe ainda a possibilidade de utilizar miRNAs como novas formas terapêuticas, embora haja barreiras já conhecidas dessa forma terapêutica sendo elas as diferenças entre as expressões moleculares dos pacientes, e a outra é a via de administração na qual vem sendo de motivo de grande discussão na comunidade científica, além de gastos dispendiosos. No que consta ao último aspecto mencionado os microRNAs aparecem como uma forma de tratamento muito mais personalizada, tendo que seguir as expressões moleculares individualizadas para *downregulation* dos biomarcadores na doença vai dar aórtica.

REFERÊNCIAS

BEUAMONT J. et al, microRNA-122 down-regulation may play a role in severe myocardial fibrosis in human aortic stenosis through TGF- β_1 up-regulation. *Clinical Science*, publicado na Grã-Bretanha, Vol. 126, páginas 497-506.

COFFEY S., et al, Integrated microRNA and messenger RNA analysis in aortic stenosis. *Scientific Reports*, publicado online em 23 de novembro de 2016, vol. 6, número 36904, páginas 1-10.

FABIANI I., et al, Micro-RNA-21 (biomarker) and global longitudinal strain (functional marker) in detection of myocardial fibrotic burden in severe aortic valve stenosis: a pilot study, *Journal Translational Medicine*, publicado online 27 de agosto de 2016, vol. 14, número 248, páginas 1-11.

HEATH J.M., et al, Mechanosensitive microRNA-181b Regulates Aortic Valve Endothelial Matrix Degradation by Targeting TIMP3. *Cardiovascular Engineering and Technology*, publicado online em 24 de fevereiro de 2017.

IACOPO F. et al. Review in *Translational Cardiology: MicroRNAs and Myocardial Fibrosis in Aortic Valve Stenosis, a Deep Insight on Left Ventricular Remodeling*, *Journal of Cardiovascular Echography*; publicado online em outubro-dezembro de 2016, vol. 26, número 4, páginas 109-114.

KUSTER D.W.D., et al, MicroRNA transcriptome profiling in cardiac tissue of hypertrophic cardiomyopathy patients with MYBPC3 mutations, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 19 de setembro de 2013, páginas 1 à 8.

LIU W. et al, Circulating microRNAs correlated with the level of coronary artery calcification in symptomatic patients, *Scientific Reports*, publicado online em 05 de novembro de 2015, vol. 5, número 16099, páginas 1-10.

LÖWEL, H et al. The Population-Based Acute Myocardial Infarction (AMI) Registry of the MONICA/KORA Study Region of Augsburg. *das Gesundheitswesen*, [s.l.], v. 67, n. 01, p.31-37, 19 jul. 2005. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2005-858241>.

OURY C. et al, MicroRNAs in Valvular Heart Diseases: Potential Role as Markers and Actors of Valvular and Cardiac Remodeling, *International Journal of Molecular Science*, publicado online em 17 de julho de 2016, vol. 17, número 7, página 1120-1137.

PALACÍN M., et al, Profile of microRNAs in the plasma of hypertrophic cardiomyopathy patients compared to healthy controls, *International Journal Of Cardiology*, 10 de setembro de 2013, Vol. 167, número 6, páginas 3075-3076.

SOUZA R. W. A., et al, Regulation of cardiac microRNAs induced by aerobic exercise training during heart failure. *American journal of physiology heart and circulatory physiology*, publicado online em 15 de novembro de 2015, vol.309, número 10, páginas H1629-1641.

TAKAHASHY K. et al. Dysregulation of ossification-related miRNAs in circulating osteogenic progenitor cells obtained from patients with aortic stenosis, *Clinical Science*, publicado em Londres, 1 de Julho de 2016, vol. 130, número 13, páginas 1115-1124.

VAN DER VEN C.F.T., Et al, In vitro 3D model and miRNA drug delivery to target calcific aortic valve disease, *Clinical Science*, publicado em Londres, 1 de fevereiro de 2017, vol. 113, número 3, páginas 181-195.

WEBER K., ROSTERT N., BAUERSACHS S., WESS G., Serum microRNA profiles in cats with hypertrophic cardiomyopathy; Springer science+Business Media; publicado na Alemanha; January 2015.

XIAO F. I., et al. M1 macrophages promote aortic valve calcification mediated by microRNA-214/TWIST1 pathway in valvular interstitial cells, *American Journal Translational Research*, publicado online em 15 de dezembro de 2016, Vol. 8, número 12, páginas 5773-5783.