

A Expressão e Implicação Clínica de miRNAs Plasmáticos em Pacientes com Fibrilação Atrial

The Clinical Expression and Implication of Plasma miRNAs in Patients with Atrial Fibrillation

Kamilo Mesquita Dantas^{1,*}, Heitor Tomé Rezende¹, Antônio Menezes da Silva Junior¹, Hermínio Sobrinho¹, Pedro Paulo Clark de Oliveira¹

ORCID ID

Dantas KM  <https://orcid.org/0000-0001-5792-5360>

Rezende HT  <https://orcid.org/0000-0003-0988-3703>

Silva Junior AM  <https://orcid.org/0000-0003-1751-5206>

Sobrinho H  <https://orcid.org/0000-0002-7521-3700>

Oliveira PPC  <https://orcid.org/0000-0001-7625-4515>

RESUMO

Introdução: miRNA circulantes foram identificados como potenciais biomarcadores em arritmias cardíacas. Assim, pretende-se avaliar, em pacientes com fibrilação atrial (FA), a expressão de miRNAs no plasma, a sua repercussão clínica e seu fator prognóstico. **Materiais e Métodos:** plataformas PubMed, Cochrane e Google Scholar foram usadas como fonte de dados. Critérios de elegibilidade: miRNAs como biomarcadores diretos na expressão clínica da FA; todos idiomas. Última busca: 19/09/2019; excluídos estudos envolvendo outras comorbidades; foco farmacológico; em animais; em pacientes já submetidos a procedimentos cardíacos e artigos de revisão. Nos estudos foram realizados a coleta e armazenamento de plasma, isolamento de RNA, análise de dados, PCR em tempo real, previsão de alvo do miRNA e análise estatística. **Resultados:** Os estudos analisados geraram um n=332 pacientes separados em: portadores de FA e grupo controle. Em pacientes com FA houve aumento da expressão do miR-1266, miR-4279, miR-892a, miR-3149, miR-155, miR-146b5p, miR-19b e redução de miR-3171, miR-3664-5p e miRNA-150. **Discussão:** notou-se que a regulação de mediadores inflamatórios, canais iônicos e morfofisiologia cardíaca estão relacionados com a expressão dos miRNA. **Conclusão:** logo, os níveis de alterações de miRNAs podem refletir a gravidade do avanço clínico e fisiopatológico da FA, podendo ser utilizados como preditores da FA. .

PALAVRAS-CHAVE: Biomarcadores; Fibrilação atrial; MicroRNAs.

ABSTRACT

Introduction: circulating miRNA were identified as potential biomarkers in cardiac arrhythmias. It is intended to evaluate, in patients with atrial fibrillation (AF), the expression of miRNAs in plasma, their clinical repercussion and their prognostic factor. **Materials and Methods:** PubMed, Cochrane and Google Scholar platforms were used as a data source. Eligibility criteria: miRNAs as direct biomarkers in the clinical expression of AF; all languages. Last search: 19/09/2019; studies involving other comorbidities were excluded; pharmacological focus; in animals, in patients already submitted to cardiac procedures and review articles. Plasma collection and storage, RNA isolation, data analysis, real-time PCR, miRNA target prediction and statistical analysis were performed in the studies. **Results:** The studies generated n = 332 patients: with AF and control group. In patients with AF there was an increase in the expression of miR-1266, miR-4279, miR-892a, miR-3149, miR-155, miR-146b5p, miR-19b and a reduction in miR-3171, miR-3664-5p and miRNA-150. **Discussion:** it was noted that the regulation of inflammatory mediators, ion channels and cardiac morphophysiology are related to the expression of miRNA. **Conclusion:** Therefore, the levels of changes in miRNAs may reflect the severity of the clinical and pathophysiological progression of AF, and can be used as predictors of AF.

KEYWORDS: Biomarkers; Atrial fibrillation; MicroRNAs.

1. Pontifícia Universidade Católica de Goiás – Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas Goiânia (GO), Brasil.

Recebido: Nov. 18, 2019 | Aceito: Jan. 27, 2020

*Autor correspondente: kamilomesquitadantas@hotmail.com

Editor de seção: José Tarciso Medeiros de Vasconcelos

INTRODUÇÃO

A fibrilação atrial (FA) é uma arritmia supraventricular em que ocorre uma completa desorganização na atividade elétrica atrial. Ocorre quando um padrão difuso e desorganizado de atividade elétrica nos átrios suprime ou substitui o mecanismo sinusal normal. Esse distúrbio é uma das principais causas de morbidade, mortalidade e gastos com saúde pública¹.

Nas últimas duas décadas, a FA tornou-se um importante problema de saúde pública, com grande custo aos recursos de saúde. Apresenta importante repercussão na qualidade de vida, em especial devido a suas consequências clínicas, fenômenos tromboembólicos e alterações cognitivas¹. Nesse aspecto, os estudos envolvendo os microRNAs (miRNAs) surgem como uma nova perspectiva no diagnóstico precoce de FA.

A FA é a arritmia cardíaca mais frequente na prática clínica e sua prevalência na população geral foi estimada entre 0,5 e 1%. Nos Estados Unidos, 2,3 milhões de pessoas têm fibrilação, e esse número deverá aumentar para 5,6 milhões em 2050. Também está associado a um risco aumentado em cinco vezes de ocorrência de acidente vascular cerebral (AVC) e estima-se causar 15% de todos os derrames¹.

Fatores genéticos participam da geração de fatores eletrofisiológicos e de substratos que determinam a suscetibilidade individual ao início e à progressão da FA². A presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphism*) pode alterar a expressão de microRNAs e proteínas e é estabelecida como um fator contribuinte em doenças cardíacas complexas³.

Nos últimos anos, a análise de genes candidatos e do genoma completo em pacientes com FA foi conduzida a fim de compreender os mecanismos moleculares subjacentes ao desenvolvimento dessa enfermidade¹. Vários estudos demonstraram o papel dos mecanismos regulatórios pós-transcricionais, incluindo microRNAs na etiologia da arritmogênese². Pesquisas recentes demonstram que os miRNAs regulam a excitabilidade e vários traços fisiológicos das células cardíacas, incluindo a automaticidade, o fluxo de Ca²⁺, a condução e a repolarização, e estão fortemente ligados ao remodelamento elétrico e estrutural, que são os principais fatores na promoção e progressão das arritmias². Além

disso, novos estudos demonstraram a relação entre miRNAs e o desenvolvimento de processos inflamatórios e fibróticos, que são altamente correlacionados à FA. Isso levou a uma mudança de paradigma de um problema “elétrico” para algo mais “estrutural”⁴. Dessa forma, entende-se os miRNAs como potenciais biomarcadores para o desenvolvimento e a manutenção dessa arritmia.

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi avaliar a expressão de miRNAs no plasma, sua repercussão clínica e o seu fator prognóstico em pacientes com FA. Esta revisão contribui para a compreensão do processo que desencadeia a FA, incentivando novos estudos para avaliar a aplicação dessas moléculas como biomarcadores dessa doença.

METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão sistemática de acordo com a recomendação PRISMA com intuito de analisar estudos sobre a expressão de miRNAs no plasma, sua repercussão clínica e seu fator prognóstico em pacientes com FA. Não houve seleção de idioma nem delimitação de tempo, sendo a última busca feita em 19/09/2019. Foram excluídos estudos envolvendo outras comorbidades, com foco farmacológico, em animais, em pacientes já submetidos a procedimentos cardíacos e artigos de revisão. Assim, priorizou-se estudos que traziam miRNAs como biomarcadores na expressão clínica da FA permitindo a análise da correlação direta entre essas moléculas e a doença.

A busca por artigos ocorreu até a data de 19/09/2019 utilizando as palavras-chave “miRNAs”, “atrial fibrillation” e “biomarkers” (sempre em caráter aditivo), nas plataformas: PubMed e Cochrane, sendo rastreados respectivamente 55, 100 artigos. No PubMed foi digitado na barra de pesquisa: *miRNAs AND atrial fibrillation AND biomarkers*. Não houve seleção de idiomas, período específico nem especificação de tipo de publicação. A busca foi feita até o dia 19/09/19 gerando 55 artigos. O Google Scholar também foi utilizado como plataforma de busca, porém, ao seguir a mesma estratégia das demais plataformas, o número de

artigos superou 1.600, interferindo na qualidade desta revisão. Assim, estipulou-se uma periodização (sendo selecionados artigos a partir do ano de 2015 até a data da última busca das outras plataformas) utilizando as palavras-chave “miRNAs expression”, “atrial fibrillation” e “biomarkers”, gerando 112 artigos, totalizando um $n = 267$ artigos rastreados para essa revisão.

Dentre os 267 artigos rastreados foram retirados os duplicados, restando 243 artigos que foram lidos, de forma independente, por dois dos autores desta revisão. Nessa etapa, os estudos foram selecionados a partir da leitura do título e resumo de cada um, aplicando os critérios de elegibilidade e eliminando artigos que analisavam outras comorbidades concomitantes à FA; estudos com foco em outras doenças como tireoideopatias, diabetes mellitus, neoplasias, depressão, aterosclerose e coagulopatias; e artigos cujo foco eram estudos farmacológicos, restando 27 artigos, os quais foram lidos na íntegra de forma independente pelos autores. Houve novas exclusões: artigos de pesquisa desenvolvidas em animais, artigos com resultados preliminares, artigos de revisão sistemática, textos publicados como resumo ou editoriais. Também foram retirados estudos em populações específicas (FA em maratonistas; FA em pacientes submetidos a ablação, a revascularização ou a qualquer outro procedimento cardiovascular; FA em indivíduos em uso de anticoagulantes; FA em pacientes que sofreram acidente vascular encefálico – AVE). Além disso, foram retirados desta revisão artigos que tratavam dos miRNAs como biomarcadores de aterosclerose, AVEs e eventos trombóticos. Diante disso, três artigos restantes atenderam aos critérios de elegibilidade desta revisão, trazendo uma relação direta dos miRNAs como biomarcadores na expressão clínica da FA.

Estabeleceu-se entre os três estudos um quadro comparativo evidenciando autor, ano de publicação, tipo de estudo, população participante, metodologia aplicada e resultados. Foi possível evidenciar a diferença na expressão de miRNAs em pacientes com FA e grupo controle, diferenças na expressão de miRNAs de acordo como tipo de FA e genes relacionados à FA (relacionados à resposta inflamatória, à influência nos canais de íons cálcio, envolvidos na apoptose e à fibrose do tecido cardíaco).

De acordo com ROBIS (*Risk of Bias in Systematic Reviews*), a revisão é avaliada como de baixo potencial de viés.

RESULTADOS

O estudo de Xu et al.⁵ avaliou uma determinada população no Hospital Shijitan de Pequim, de janeiro de 2011 a junho de 2015. Noventa pacientes com idade mediana de $72,17 \pm 4,76$ anos e FA em preparação para operação de ablação por radiofrequência foram classificados como grupos de FA paroxística, persistente ou permanente. A idade média dos 90 indivíduos do grupo controle foi de $69,40 \pm 5,86$ anos. Cada paciente teve mais de cinco eletrocardiogramas em momentos diferentes, apoiando seu diagnóstico.

Foi constatado no estudo que a expressão diferencial de miRNAs na circulação coronariana em pacientes com FA de três tipos: a expressão de miRNAs no sangue do seio coronariano (CSB) pode refletir melhor o metabolismo real, a expressão e o status regulatório dos miRNAs em pacientes com FA; os níveis de alterações do miRNA podem refletir a gravidade do avanço clínico e fisiopatológico da FA; e que o miR-3171, miR-892a e miR-3149, expressos de maneira variável do estágio inicial e final da doença, podem ser utilizados como biomarcadores para o diagnóstico precoce da FA.

O estudo de Xu et al.⁵ comparou com o sangue periférico de indivíduos normais (Grupo PB). Os níveis de miR-3171 foram mais baixos nos pacientes com FA, indicando que ele é secretado principalmente por outros tecidos além do miocárdio, e pode participar da regulação da doença através da circulação coronariana. A diminuição contínua do miR-3171 em pacientes com FA paroxística persistente e permanente torna possível que ele se torne um biomarcador eficiente.

Além disso, a expressão de miR-892a e miR-3149 foi maior no grupo PB do que em pacientes do que no grupo CSB, bem como no grupo controle normal (HC). Não houve diferença entre o grupo CSB e o grupo HC. Isso indica que eles foram produzidos por outros tecidos que não as células cardíacas e atuam como reguladores na circulação coronariana. Embora ambos tenham sido reduzidos no CSB dos pacientes, mas aumentados no PB, eles provavelmente se tornarão marcadores diagnósticos da FA. Além disso, é necessário confirmar ainda que muitos fatores como envelhecimento, hipertensão, dislipidemia e outras doenças sistêmicas, estados de ativação simpática e inflamação podem afetar o resultado.

O estudo de Liu et al.⁶ avaliou pacientes entre março de 2011 e dezembro de 2011. Foram inscritos 105 participantes (61 homens, 44 mulheres) com idade mediana de 51 anos. Todos os pacientes com FA foram monitorados por eletrocardiografia por 7 dias para sustentação do diagnóstico.

Foi constatado que o nível de miRNA-150 no plasma de pacientes com FA era substancialmente menor do que o de pessoas saudáveis. Com isso, o miRNA-150 reduzido em circulação foi significativamente associado à FA.

Como próximo passo, o estudo buscou determinar se o miRNA-150 estava ligado à patogênese da FA. O estudo buscou identificar correlações em amostras clínicas entre os níveis de expressão do miR-150 e de importantes genes codificadores de proteínas envolvidos na patogênese da FA. Foi realizada uma busca do alvo para o miR-150 usando quatro bancos de dados (TargetScan, miRanda, Starbase Clip-seq e miRDB). Descobriu-se que pelo menos 18 genes estavam relacionados à FA. Dentre eles, 11 genes estavam relacionados ao sistema de resposta inflamatória, 4 tiveram papel nos canais de íons cálcio, 2 estavam envolvidos na apoptose e 1 relacionado à fibrose do tecido cardíaco.

A inflamação não só foi um marcador da FA incidente, como também está mecanicamente envolvida na indução do processo de fibrilação. Os genes-alvo previstos (IL-6, IL-18, TNF- α e TGF- β) aumentaram significativamente em pacientes com FA. Citocinas como essas são produzidas por células ativadas, geralmente monócitos e macrófagos que também secretam miRNA-150 em resposta a estímulos inflamatórios, com o objetivo de reduzir a inflamação. Eles são fundamentais na ativação da cascata inflamatória e na produção de proteínas da fase aguda. Uma dessas proteínas de fase aguda que é o centro de muitas pesquisas é a proteína-C reativa (PCR). Esses achados sugerem uma correlação negativa entre a expressão de citocinas inflamatórias e o miR-150. Com isso, o estudo averiguou que os níveis plasmáticos de PCR em pacientes com FA persistente eram mais altos do que em pacientes com FA paroxística, e os níveis nos dois grupos de FA eram maiores que no grupo controle. O miRNA-150 teve uma alta correlação negativa com a resposta inflamatória e, conseqüentemente, com a PCR⁶.

Liu et al.⁶ demonstraram um conjunto específico de miRNAs em pacientes com FA que apresentaram expressão única. Os níveis de expressão de miRNA-146a, miR-150,

miRNA-375 e miRNA-19a foram significativamente reduzidos em pacientes com FA. No entanto apenas a expressão do miRNA-150 foi importante o suficiente para merecer uma avaliação mais aprofundada. Na população avaliada com FA, foram encontrados níveis de expressão significativamente mais baixos do miRNA-150, que foi identificado como preditor da doença (OR 1,96, IC 95% 1,5 a 3,57, $P < 0,001$).

O estudo concluiu que, pelo limitado número de amostras usadas na análise, a sua capacidade de confirmar o poder diagnóstico do microRNA e seu valor para testes clínicos em pacientes com FA ficou prejudicado. Futuros estudos prospectivos em coortes maiores são necessários para estabelecer os papéis desses miRNAs na fibrilação atrial⁶.

Um total de 47 indivíduos foram avaliados pelo estudo de Wang et al.⁷. Os perfis de expressão de miRNAs no apêndice atrial esquerdo (AAE) foram obtidos em 30 pacientes com FA paroxística. A idade média foi de $48,5 \pm 7,2$ anos, e 63% eram do sexo masculino. O período desde o primeiro diagnóstico de FA foi de ± 2 anos.

Em particular, miR-155, miR-146b-5p e miR-19b demonstraram as alterações mais pronunciadas. Esses resultados indicaram os possíveis papéis dos miRNAs na progressão da FA. Foi descoberto que miR-155, miR-146b-5p e miR-19b são consideravelmente elevados no AAE em pacientes com FA em comparação com o grupo controle. Um grupo de miRNAs regula genes que codificam proteínas do canal iônico cardíaco e outros genes relevantes, e vários estudos relataram o envolvimento direto de miRNAs no controle da excitabilidade cardíaca e da arritmogênese. Alguns desses miRNAs demonstraram estar diretamente envolvidos na FA e alguns são considerados com potencial papel na patogênese da fibrilação, de acordo com seus genes-alvo⁷.

Para determinar os fatores que influenciam os níveis de miRNAs, Wang et al.⁷ analisaram a associação entre miRNAs e as características basais dos pacientes. Houve correlações positivas significativas entre a expressão de miR-146b-5p e miR-155 e o diâmetro médio do átrio esquerdo (DAE) dos pacientes com FA, além dos níveis plasmáticos de PCR e duração da FA, respectivamente. Curiosamente, os níveis de DAE, duração da FA e os níveis de PCR são considerados preditores de risco aumentado para a recorrência da FA.

Durante o estudo, miR-155, miR-146b-5p e miR-19b foram significativamente aumentados em pacientes com PAF

não valvar. Mais importante, também foram encontrados níveis significativamente mais altos de expressão de miR-155 e miR-146b-5p, independentemente associados à LAD, duração da FA e níveis de PCR. No entanto, apenas o nível de expressão do miR-155 e do miR-146b, a dimensão do AE e a duração da FA foram capazes de prever significativamente a recorrência da FA na análise multivariada⁷.

Curiosamente, o miR-155, que é relatado como estando envolvido em doenças cardiovasculares, mostrou os maiores aumentos nos pacientes com FA em comparação com ao grupo controle. O miR-155 pode influenciar diretamente os resultados da arritmia direcionando a expressão gênica do canal iônico crítico, incluindo CACNA1C e KCNA4, que codificam o canal Ca^{2+} do tipo L cardíaco (I_{CaL}) $\alpha 1c$ e o componente inicial da corrente de potássio externa transitória (I_{to1}), respectivamente. Os autores constataram que a expressão do CACNA1C foi significativamente menor no grupo AF do que no grupo controle, não apenas para o nível de proteínas, mas também para o nível de mRNA. Além disso, a regulação positiva do miR-155 também pode desempenhar um papel na inflamação. Embora o mecanismo que regula a função e a expressão do miRNA não tenha sido completamente compreendido durante a análise, as informações atualmente disponíveis (ou seja, superexpressão em pacientes com FA) permitiram reconhecer o miR-155 como um gene de importância clínica potencialmente primordial no diagnóstico e tratamento da FA. Com isso, a avaliação do mRNA-155 em tecidos ou fluidos biológicos pode ser utilizada como parâmetro bioquímico para detecção e prognóstico da FA⁷.

Acredita-se também que o miRNA-146 seja um mediador da inflamação junto com o miRNA-155. Wang et al.⁷ avaliaram que a expressão do miR-146 é regulada positivamente por fatores inflamatórios como interleucina-1 e fator de necrose tumoral. O miR-146 regula uma série de alvos, que estão principalmente envolvidos nas vias de receptores do tipo Toll, que provocam uma resposta de citocinas como parte do sistema imunológico inato. Recentemente, foi relatado que o miR-146b-5p estava com regulação positiva em pacientes com FA, o que é consistente com os achados do estudo. Os alvos potenciais do miR-146b-5p incluem TGIF1, MMP16 e TIMP4, que são relatados como participantes da formação de fibrose nos cardiomiócitos, e pode-se esperar que estes contribuam para a FA.

O MiR-19b também foi avaliado, e ficou constatado que ele também participa de respostas inflamatórias, melhorando ou reprimindo a expressão de mediadores pró-inflamatórios. O miR-19b é um protagonista importante nesse fenômeno, regulando positivamente a atividade do fator nuclear kappa-B (NF-kB). A depleção de miRNA inibe a produção de citocinas a partir do NF-kB. Além disso, está diretamente envolvido na modulação da expressão de vários reguladores negativos de sinalização de NF-kB, indicando a sua importância. Este miRNA não foi extensivamente estudado, mas os dados do estudo sugerem um possível papel na patologia da FA, que ainda está para ser identificado com mais ênfase⁷.

As Tabelas 1 e 2 resumem os resultados encontrados.

DISCUSSÃO

O estudo de Liu et al.⁶ identificou relação em amostras clínicas entre os níveis de expressão do miR-150 e de importantes genes codificadores de proteínas envolvidos na resposta inflamatória associada à patogênese da FA. Foi observado que pelo menos 11 genes estavam relacionados ao sistema de resposta inflamatória. Além disso, a inflamação não só foi um marcador da FA incidente, como também está mecanicamente envolvida na propensão à fibrilação atrial. Os genes-alvo previstos (IL-6, IL-18, TNF- α e TGF- β) aumentaram significativamente em pacientes com FA. Citocinas como essas são produzidas por células ativadas, geralmente monócitos e macrófagos, que também secretam miRNA-150 em resposta a estímulos inflamatórios⁶. Esses achados sugerem uma correlação negativa entre a expressão de citocinas inflamatórias e o miR-150. O estudo de Wang et al.⁷ também avaliou fatores inflamatórios e constatou que o MiR-146 é um mediador da inflamação junto com o miR-155. O estudo avaliou que a expressão do miR-146 é regulada positivamente por fatores como interleucina-1 e fator de necrose tumoral. Além disso, os alvos potenciais do miR-146 são participantes da formação de fibrose nos cardiomiócitos e pode-se esperar que estes contribuam para a FA. O MiR-19b também foi avaliado no estudo, e ficou constatado que ele também participa de respostas inflamatórias, melhorando ou reprimindo a expressão de mediadores pró-inflamatórios. O miR-19b participa na regulação da atividade do fator nuclear kappa-B (NF-kB),

Tabela 1. Descrição dos resultados.

Xu et al. (2016) ⁵	<p>Expressão diferente de miRNAs em pacientes com FA e grupo controle:</p> <ul style="list-style-type: none"> • miR-1266 e miR-4279, aumentaram 11,38 e 2,38 vezes, respectivamente. Em contraste, o miR-3171 e o miR-3664-5p diminuíram 0,09 e 0,14 vezes, respectivamente. • miR-892a e miR-3149 aumentaram 2,32 e 2,35 vezes, respectivamente, enquanto o miR-3171 diminuiu 0,21 vezes 	<p>Diferenças na expressão de miRNAs nos grupos de pacientes ParoAF, PersAF e PermafAF:</p> <ul style="list-style-type: none"> • miR-1266 aumentou 5,55-, 8,41- e 4,70 vezes, e o miR-3171 diminuiu 0,43-, 0,47- e 0,32 vezes no ParoAF, PersAF e grupos PermafAF, respectivamente. • ParoAF em comparação com o grupo PersAF não apresentou significância, mas houve uma diferença.
Liu et al. (2012) ⁶	<ul style="list-style-type: none"> • Constatado que o nível de miRNA-150 no plasma de pacientes com FA era substancialmente menor do que o de pessoas saudáveis. • 18 genes estavam relacionados à FA. Dentre eles, 11 genes estavam relacionados ao sistema de resposta inflamatória, 4 tiveram papel nos canais de íons cálcio, 2 estavam envolvidos na apoptose e 1 relacionado à fibrose do tecido cardíaco. • IL-6, IL-18, TNF-α e TGF-β aumentaram significativamente em pacientes com FA (miRNA-150 tem o objetivo de reduzir a liberação dessas citocinas). • Na população avaliada com FA, foram encontrados níveis de expressão significativamente mais baixos do miRNA-150 e, com isso, ele foi identificado como preditor da doença. 	
Wang et al. (2015) ⁷	<ul style="list-style-type: none"> • miR-155, miR-146b-5p e miR-19b são consideravelmente elevados em pacientes com FA em comparação com o grupo controle. • O miR-155 pode influenciar diretamente os resultados da arritmia direcionando a expressão gênica do canal iônico crítico, incluindo CACNA1C e KCNA4, que codificam o canal Ca²⁺ do tipo L cardíaco. • miRNA-146 é um mediador da inflamação junto com o miRNA-155. A expressão do miR-146 é regulada positivamente por fatores inflamatórios como interleucina-1 e fator de necrose tumoral. • O MiR-19b também foi avaliado e ficou constatado que ele também participa de respostas inflamatórias, melhorando ou reprimindo a expressão de mediadores pró-inflamatórios. 	

que está altamente relacionado a processos inflamatórios nos cardiomiócitos e, conseqüentemente, à FA.

Os miRNAs circulantes em pacientes com FA foram sequenciados por Liu et al.⁶ e os níveis de expressão de miR-146a, miR-150 foram notavelmente reduzidos. Os autores concluíram que uma redução no miR-150 circulante estava significativamente associada à FA. Além disso, constataram que os níveis plasmáticos de PCR estavam negativamente correlacionados aos níveis plasmáticos de miR-150, o que foi também evidenciado por Xu et al.⁵

De acordo Korantzopoulos et al.⁸, um dos principais fatores e condições de risco cardiovascular associado à FA é a inflamação. A inflamação pode levar à FA, mas

a FA também promove a inflamação, levando a um ciclo vicioso e progressivo. Em apoio ao processo de inflamação crônica na arritmia cardíaca, vários estudos indicaram a associação entre distúrbios autoimunes correlacionados a problemas cardíacos. Um corpo crescente de estudos indica que mediadores inflamatórios promovem uma remodelação na estrutura atrial e alterações elétricas. Os mecanismos participantes são: fibrose atrial, modulação da junção de gap e anormalidades intracelulares no manuseio de cálcio. Guo Y et al.⁹ trouxeram vários estudos epidemiológicos prospectivos que confirmaram que a inflamação pode conferir um risco aumentado de FA. Dentre eles, uma grande coorte envolvendo 25.883 participantes do *Women's Health Study* que evidenciou

Tabela 2. Resultados.

Autor	Ano	Tipo de Estudo	Número de Pacientes	Análise estatística	Métodos
Xu et al. ⁵	2016	Caso-Controle	180 pacientes (90 portadores de FA e 90 como grupo controle).	O valor limiar de significância utilizado para definir a regulação positiva ou negativa dos miRNAs foi uma variação > 1,5, com um valor de P < 0,05 calculado pelo teste t e análise de variância.	Realização de coleta e armazenamento de plasma, isolamento de RNA, matriz MicroRNA e análise de dados, PCR em tempo real. Previsão de alvo miRNA e análise estatística.
Liu et al. ⁶	2012	Estudo de Coorte	105 participantes (sendo 10 com FA, 5 do grupo controle e 90 pacientes aleatórios como teste usando qRT – PCR).	Expressão do miRNA-150: (odds ratio [OR] 1,96, intervalo de confiança de 95% [IC] 1,5 a 3,57, P < 0,001), idade (OR: 1,1, IC: 95% 1,36 a 2,73), P < 0,001) e diâmetro do átrio esquerdo (DAE) (OR: 1,5, IC: 95% 1,36 a 1,8, P < 0,001). Níveis plasmáticos de PCR estavam negativamente correlacionados aos níveis plasmáticos de miRNA-150: Intervalo de confiança de 95% [IC] 1,5 a 3,57, P < 0,001), idade (OR: 1,1, IC: 95% 1,36 a 2,73, P < 0,001) e diâmetro do átrio esquerdo (DAE) (OR: 1,5, IC: 95% 1,36 a 1,8, P < 0,001).	Realização de coleta e armazenamento de plasma, preparação de RNA, sequenciamento em profundidade e qRT-PCR, previsão de alvo do miRNA, medição de hs-CRP e análise estatística.
Wang et al. ⁷	2015	Caso-Controle	Um total de 47 indivíduos (30 pacientes com FA e 17 como grupo controle).	miRNA-155 [Hazard Ratio [HR], 1.113; P = 0,037]. miR-146b-5p (HR, 1,646; P = 0,030) níveis de expressão, LAD* (HR, 1,036; P = 0,039) e duração da FA (HR, 1,216; P = 0,044) foram encontrados para prever significativamente a recorrência da FA. *LAD: diâmetro átrio esquerdo	Realização de isolamento total de RNA (incluindo miRNA), transcrição reversa de miRNA e PCR quantitativo, análise estatística dos dados do miRNA, análise quantitativa de PCR em tempo real, Western Blot e análise estatística.

biomarcadores inflamatórios (PCR, molécula de adesão intercelular solúvel-1 e fibrinogênio) associados ao aumento da incidência de FA a incidência de FA em mulheres de meia idade. Essas anormalidades aumentam a atividade ectópica atrial e diminuem a condução atrial, prejudicando a propagação do impulso atrial normal e promovendo a reentrada. Tais fatos foram comprovados pelo estudo apresentado por Liu et al.⁶, que relacionou a supressão do miRNA-150, que está relacionado ao bloqueio da inflamação, e pacientes que apresentam FA.

O estudo de Wang et al.⁷ demonstrou que o miR-155, miR-146b-5p e miR-19b são consideravelmente elevados em pacientes com FA em comparação com o

grupo controle. Um grupo de miRNAs regula genes que codificam proteínas do canal iônico cardíaco e, com isso, esses miRNAs demonstraram estar diretamente envolvidos na patogênese da FA. A pesquisa verificou que o miR-155 estava aumentado em pacientes com FA em comparação com o grupo controle. O miR-155 pode influenciar diretamente na arritmia direcionando a expressão gênica do canal iônico crítico, incluindo CACNA1C e KCNA4 (genes responsáveis pela formação de canais de cálcio), que codificam os canais de cálcio tipo L cardíaco e o componente inicial da corrente de potássio externa transitória. Foi avaliado no estudo que a expressão do CACNA1C foi significativamente menor no grupo de pacientes com FA do que no grupo controle.

Estudos de mapeamento experimental e estudos em humanos demonstraram que a FA persistente é geralmente relacionada a ondas de excitação que se propagam pelo átrio. A perpetuação da FA é facilitada pela existência ou desenvolvimento anormal do tecido atrial capaz de manter a arritmia, com o número de ondas que podem determinar a estabilidade da FA. A reentrada no miocárdio atrial é facilitada pela desaceleração da condução e encurtamento do período refratário⁸. Ambos foram demonstrados em pacientes com FA, contribuindo ainda mais para a arritmogênese. Encurtamentos do potencial de ação atrial, expressão reduzida dos canais de cálcio do tipo L e fibrose do miocárdio atrial também foram demonstrados, fatos comprovados pelo estudo de Wang et al.⁷, que avaliou a participação de miRNAs no funcionamento dos canais iônicos do tecido cardíaco.

O estudo Xu et al.⁵ comparou o sangue coletado em seio coronariano de pacientes com FA com o sangue periférico de indivíduos normais. Os níveis de miR-3171 foram mais baixos nos pacientes com FA, indicando que ele é secretado principalmente por outros tecidos além do miocárdio e pode participar da regulação da doença através da circulação coronariana. Por isso, é necessário confirmar ainda que muitos fatores como envelhecimento,

hipertensão, dislipidemia e outras doenças sistêmicas, estados de ativação simpática e inflamação podem afetar os resultados. Tal fato já foi comprovado em outros estudos, como o de Korantzopoulos et al.⁸, que os miRNA estão altamente relacionados ao estresse do organismo, participando na regulação de processos inflamatórios. Com isso, novos estudos avaliando o papel de miRNA em processos que promovem agressões ao organismo devem ser levantados com o objetivo de avaliar as suas correlações não só com a FA, mas com diversas patologias, como demonstrado na Fig. 1.

CONCLUSÃO

Em suma, entende-se que os miRNAs estão de fato positivamente ou negativamente correlacionados à fibrilação atrial, atuando diretamente na morfologia e/ou na funcionalidade cardíaca. Dessa forma, a união desses estudos trazidos reforça a ideia da importância dessas moléculas como biomarcadores da doença, dando novos rumos às pesquisas referentes a diagnóstico, desenvolvimento, manutenção e prognóstico da fibrilação atrial.

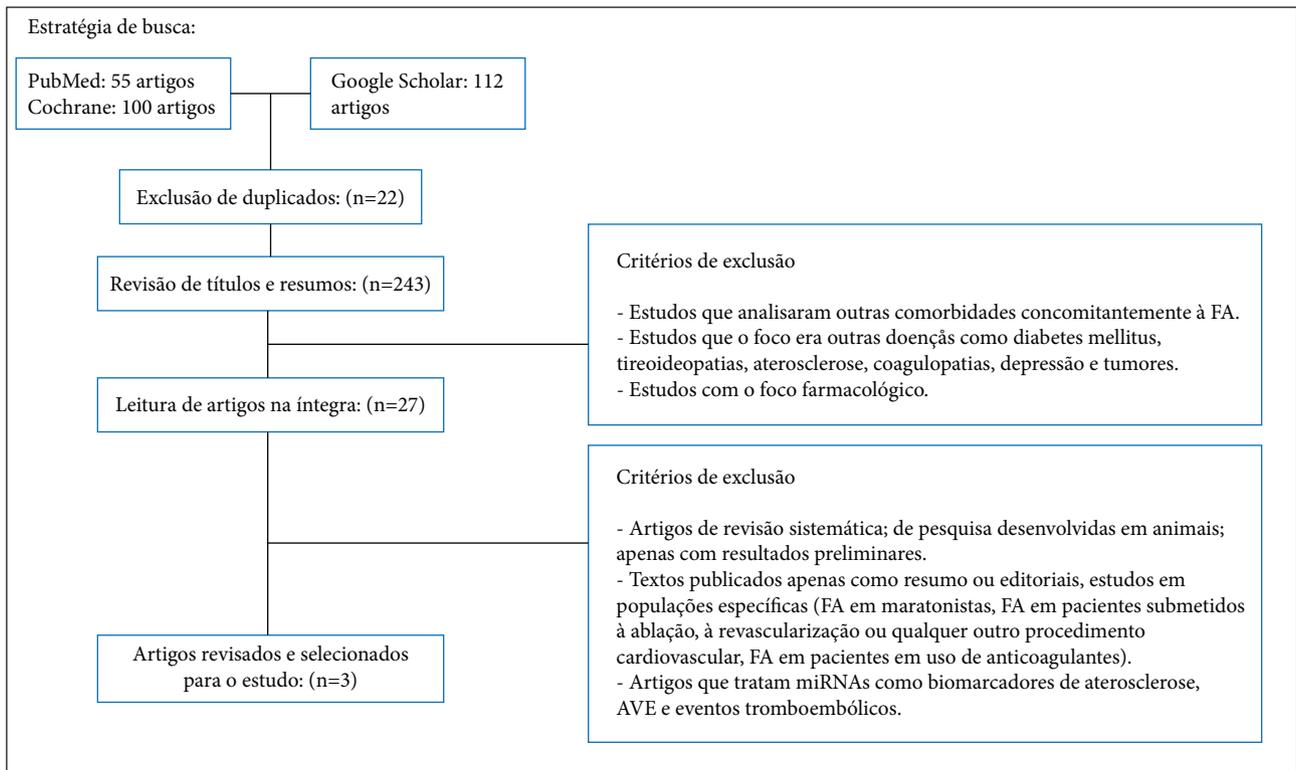


Figura 1. Diagrama de fluxo PRISMA, critérios de exclusão.

No entanto, a capacidade desta revisão de confirmar o poder diagnóstico dos miRNAs ainda é limitada, visto o pequeno número de indivíduos nos estudos revisados. Outro ponto importante que necessita de

maior abordagem são os mecanismos fisiopatológicos aos quais essas moléculas estão envolvidas, permitindo uma abordagem diagnóstica de forma mais pontual e eficaz.

REFERÊNCIAS

1. Carlos, A., Pimenta, E., & Drager, L. F. (2016). II diretriz de Fibrilação Atrial, 106, 44–53.
2. Shi KH, Tao H, Yang J-J, Wu J-X, Xu S-S, Zhan H-Y. Role of microRNAs in atrial fibrillation: New insights and perspectives. *Cell Signal*, 2013;25(11):2079–84. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.06.009>
3. Cooley N, Cowley MJ, Lin RCY, Marasco S, Wong C, Kaye DM et al. Influence of atrial fibrillation on microRNA expression profiles in left and right atria from patients with valvular heart disease. *Physiol Genomics*, 2012;44(3):211–9. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00111.2011>
4. Boos CJ, Anderson RA, Lip GYH, Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? *Eur Heart J*, 2006;27(2):136–49, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehi645>
5. Xu G, Cui Y, Jia Z, Yue Y, Yang S. The values of coronary circulating miRNAs in patients with atrial fibrillation. *PLoS ONE*, 11(11):e0166235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166235>
6. Liu Z, Zhou C, Liu Y, Wang S, Ye P, Miao X, Xia J. The Expression Levels of Plasma microRNAs in Atrial Fibrillation Patients. *PLoS ONE*, 2012;7(9): e44906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044906>.
7. Wang J, Song S, Xie C, Han J, Li Y, Shi J, et al. MicroRNA profiling in the left atrium in patients with non-valvular paroxysmal atrial fibrillation. *BMC Cardiovasc Disord*, 15(97):1–7. <https://doi.org/10.1186/s12872-015-0085-2>
8. Korantzopoulos P, Letsas KP, Tse G, Fragakis N, Goudis CA, Liu T. Inflammation and atrial fibrillation: A comprehensive review. *J Arrhythmia*, 2018;34(4):394–401. <https://doi.org/10.1002/joa3.12077>
9. Guo Y, Lip GY, Apostolakis S. Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, 2012;60(22):2263–70. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.04.063>
10. Silva, Ananília Medeiros Gomes da. miRNAs circulantes como biomarcadores da fibrilação atrial aguda/Ananília Medeiros Gomes da Silva. – Natal, 2015.
11. Harada M et al. Role of Inflammation in Atrial Fibrillation Pathophysiology and Management *Circ J*. ;79(3):495-502. DOI: 10.1253/circj.CJ-15-0138
12. Markides, V., & Schilling, R. J. (2003). Atrial fibrillation: classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment * 939.