

## **AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MICRORNAS EM PACIENTES PORTADORES DE HIPERTROFIA VENTRICULAR ESQUERDA (HVE) SECUNDÁRIA A HIPERTENSÃO**

Jadson Santos Nascimento<sup>1</sup>, Mylena Cristhina Rodrigues Moreira<sup>1</sup>, Nelson Dinamarco<sup>1</sup>, Patrícia Santos Pereira Lima<sup>2</sup>, Sandra Mara Bispo Sousa<sup>2</sup>, Alessandro Porto Santana<sup>2</sup>, Jane Lima dos Santos<sup>1</sup>, Izaltina Silva Jardim Cavalli<sup>1</sup>, Carla Martins Kaneto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC – Ilhéus - Bahia

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB – Vitória da Conquista - Bahia

### **Resumo:**

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) representa freqüente complicação da hipertensão arterial sistêmica (HAS). O objetivo do presente projeto é avaliar comparativamente a expressão de um conjunto de microRNAs expressos no sangue de indivíduos portadores de HVE e indivíduos controle. Foram coletadas amostras de sangue de 59 doadores, sendo 8 pertencentes à pacientes portadores de HVE, 28 a pacientes que possuem apenas HAS e 23 de indivíduos normotensos. As amostras coletadas foram fracionadas em plasma de onde foi extraído o RNA. Foi avaliada, por RT-PCR quantitativo em Tempo Real, a expressão de um conjunto de 92 microRNAs em 11 amostras, com o objetivo de encontrar microRNAs diferencialmente expressos que pudessem ser utilizados como marcadores moleculares associados a patologia. Para isso foi utilizado o kit miScript miRNA PCR Arrays. As análises realizadas indicaram que os microRNA 7-5p e 26b-5p apresentaram expressão diferencial nas amostras analisadas.

### **Autorização legal:**

Os doadores foram previamente informados sobre o projeto e sua finalidade, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e de acordo com a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UESC, sob o número 1.043.258.

### **Palavras-chave:**

MicroRNAs; Hipertrofia Ventricular Esquerda; Hipertensão Arterial.

### **Apoio financeiro:**

FAPESB, CNPq e UESC.

### **Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:**

UESC.

### **Introdução:**

A hipertrofia ventricular esquerda (HVE) representa freqüente complicação da hipertensão arterial sistêmica (HAS), sendo sua prevalência dependente das características da população estudada, variando de 20% em hipertensos leves a 70% em formas mais complicadas. No hipertenso, a presença de HVE representa um forte marcador de risco para eventos cardiovasculares e renais. A HVE se faz à custa de importantes alterações estruturais do miocárdio, entre as quais se incluem, além da hipertrofia do cardiomiócito, um aumento do conteúdo de fibroblastos e elementos intersticiais. Essa isquemia e fibrose resultante estão no centro de muitas das conseqüências reconhecidas da HVE, como o aumento da dispersão temporal de QT, as arritmias, a morte súbita e a insuficiência cardíaca congestiva. Considerada a importância da HAS na população brasileira e o desenvolvimento de lesões de órgão-alvo decorrentes desta patologia, o objetivo do presente projeto é avaliar comparativamente a expressão de um conjunto de microRNAs expressos no sangue de indivíduos hipertensos portadores de HVE secundária a HAS e indivíduos controle.

### **Metodologia:**

Foram coletadas amostras de sangue de 59 doadores previamente informados sobre o projeto e sua finalidade, mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e de acordo com a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UESC. Das 59 amostras coletadas, oito pertenciam à pacientes portadores de HVE associada à

HAS, 28 a pacientes que possuem apenas HAS e 23 de indivíduos normotensos a fim de constituir o grupo controle. As amostras coletadas foram fracionadas em plasma e conteúdo leucocitário de onde foram extraídos respectivamente RNA e DNA, que foram posteriormente quantificados através de leitura realizada em Nano Drop. Nesta primeira etapa da pesquisa foi avaliada, por RT-PCR quantitativo em Tempo Real, a expressão de um conjunto de 92 microRNAs em onze amostras (quatro de pacientes normotensos, quatro de pacientes hipertensos e três de pacientes portadores de HVE secundária a hipertensão), com o objetivo de encontrar microRNAs diferencialmente expressos que pudessem ser utilizados como marcadores associados a patologia e que terão sua expressão avaliada na totalidade das amostras coletadas. Para isso foram utilizados o kit miScript II Reverse Transcription Kit, para transcrição reversa e miScript miRNA PCR Arrays (Qiagen), para avaliação da expressão dos microRNAs.

### Resultados e Discussão:

As análises realizadas indicaram que os microRNA 26b-5p e 7-5p apresentaram expressão considerável e diferencial nas amostras analisadas, sendo assim bons candidatos. Observou-se expressão significativamente maior dos referidos microRNAs nas amostras dos pacientes portadores de HVE em relação a indivíduos portadores de HAS apenas e indivíduos normotensos. O microRNA 7-5p apresenta baixa expressão em células cancerosas e estudos sugerem que atue como um supressor tumoral. Interessantemente, um dos alvos deste microRNA, o gene EGFR é conhecido como um importante indutor da proliferação celular. Este microRNA também aparenta inibir a proliferação de células endoteliais, inibindo a angiogênese. A inibição do microRNA 26b-5p também foi relatada em alguns tipos tumorais, suprimindo a invasão celular, migração e metástase. A alteração de sua expressão também foi relatada em pacientes com insuficiência cardíaca, mas não há ainda estudos relacionados a expressão destes microRNAs ao desenvolvimento da HVE, de modo que sua função no desenvolvimento de doenças cardiovasculares ainda permanecem como uma área de investigação. Os microRNAs 26b-5p e 7-5p terão sua expressão avaliada na totalidade de amostras viáveis disponíveis para que se possa confirmar a possibilidade de sua utilização como marcadores associados a HVE.

### Conclusões:

Em conclusão, o presente estudo sugere que os níveis circulantes dos microRNAs 7-5p e 26b-5p apresentam-se elevados em pacientes portadores de HVE e estudos futuros serão necessários para se elucidar qual o papel destes microRNAs na patogênese da doença. A avaliação dos microRNAs com expressão aumentada ou diminuída, assim como de seus alvos em potencial, pode fornecer informações importantes sobre o papel biológico desses microRNAs na HVE. Os resultados aqui apresentados sugerem que os microRNAs podem ter papel importante na patogênese da HVE e podem representar novos biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico da HVE. Esses resultados são de grande importância, uma vez que os microRNAs circulantes podem ser facilmente dosados, possuindo potencial aplicação clínica.

### Referências bibliográficas

- Fuchs D, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC, Picon R V. Trends in Prevalence of Hypertension in Brazil: A Systematic Review with Meta-Analysis 2012;7. doi:10.1371/journal.pone.0048255.
- Williams L. 2003 World Health Organization (WHO)/ International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension World Health Organization, International Society of Hypertension Writing Group 2003:1983–92. doi:10.1097/01.hjh.0000084751.37215.d2.
- Kupari M, Turto H, Lommi J. Left ventricular hypertrophy in aortic valve stenosis: Preventive or promotive of systolic dysfunction and heart failure? Eur. Heart J. 2005;26:1790–6
- Kahan T, Bergfeldt L. Left ventricular hypertrophy in hypertension: its arrhythmogenic potential 2005. doi:10.1136/hrt.2004.042473.
- Roncarati R, Anselmi V, Losi A, Papa L, Cavarretta E, Costa D, et al. Circulating miR-29a, Among Other Up-Regulated MicroRNAs, Is the Only Biomarker for Both Hypertrophy and Fibrosis in Patients With Hypertrophic Cardiomyopathy. 2014;63.
- Saiselet M, Gacquer D, Spinette A, Craciun L, Decaussin-Petrucci M, Andry G, et al. New

global analysis of the microRNA transcriptome of primary tumors and lymph node metastases of papillary thyroid cancer. *BMC Genomics* [Internet]. 2015;16:828. Available from: <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/16/828>  
<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/s12864-015-2082-3.pdf>

Wang W, Dai LX, Zhang S, Yang Y, Yan N, Fan P, et al. Regulation of epidermal growth factor receptor signaling by plasmid-based MicroRNA-7 inhibits human malignant gliomas growth and metastasis in vivo. *Neoplasma*. 2013;60:274–83.

Kefas B, Godlewski J, Comeau L, Li Y, Abounader R, Hawkinson M, et al. microRNA-7 inhibits the epidermal growth factor receptor and the akt pathway and is down-regulated in glioblastoma. *Cancer Res*. 2008;68:3566–72.

Webster RJ, Giles KM, Price KJ, Zhang PM, Mattick JS, Leedman PJ. Regulation of epidermal growth factor receptor signaling in human cancer cells by MicroRNA-7. *J. Biol. Chem*. 2009;284:5731–41.

Miyamoto K, Seki N, Matsushita R, Yonemori M, Yoshino H, Nakagawa M, et al. Tumour-suppressive miRNA-26a-5p and miR-26b-5p inhibit cell aggressiveness by regulating PLOD2 in bladder cancer. *Br. J. Cancer* [Internet]. 2016; Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/bjc.2016.179>

Wang Y, Sun B, Zhao X, Zhao N, Sun R. Twist1-related miR-26b-5p suppresses epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion by targeting SMAD1 in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2016;

Wang Y, Sun B, Sun H, Zhao X, Wang X, Zhao N, et al. Regulation of proliferation, angiogenesis and apoptosis in hepatocellular carcinoma by miR-26b-5p. *Tumor Biol*. 2016;1–15.