



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE MEDICINA

Trabalho de Conclusão de Curso

**MicroRNAs CIRCULANTES NO DIAGNÓSTICO DE GLIOMAS:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA**

GOIÂNIA – GO

2022

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
CURSO DE MEDICINA

**MicroRNAs CIRCULANTES NO DIAGNÓSTICO DE GLIOMAS:
UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA**

**Orientandos: Giovanna Garcia de Oliveira e
João Pedro Bernardes Teixeira Menezes**
Orientadora: Profa. Vera Aparecida Saddi

GOIÂNIA – GO
2022

SUMÁRIO

RESUMO	4
INTRODUÇÃO	5
METODOLOGIA	8
RESULTADOS	10
DISCUSSÃO	20
REFERÊNCIAS	24

RESUMO

INTRODUÇÃO: Os gliomas são os tumores primários do Sistema Nervoso Central (SNC) de maior mortalidade, cujo diagnóstico é baseado principalmente em estudos de imagem. Quando se faz necessário um diagnóstico mais preciso, biopsias são realizadas, fato que representa risco ao paciente, especialmente quando os gliomas estão localizados em zonas de difícil acesso. Nesse sentido, o uso de biomarcadores circulantes surge como um meio de complementar às tradicionais biopsias, auxiliando o diagnóstico, com a vantagem de ser um método minimamente invasivo. Entre os biomarcadores em estudo, a detecção e quantificação de microRNAs circulantes têm se mostrado bastante promissoras. **OBJETIVO:** O objetivo deste estudo foi identificar, por meio de revisão sistemática da literatura, os principais microRNAs circulantes capazes de auxiliar no diagnóstico dos gliomas. **METODOLOGIA:** Utilizando as bases de dados Pubmed e Web of Science, foram selecionados estudos publicados em inglês, que avaliaram microRNAs circulantes associados ao diagnóstico de gliomas. O protocolo da revisão sistemática foi publicado no PROSPERO e o estudo seguiu diretrizes metodológicas do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Todos os estudos incluídos usaram qRT-PCR ou Microarray para análise da expressão dos microRNAs circulantes. Um total de 220 artigos foram filtrados, sendo 41 artigos selecionados de acordo com os critérios de inclusão. **RESULTADOS:** Os estudos incluídos investigaram a expressão de 68 microRNAs circulantes associados ao diagnóstico de gliomas. Os microRNAs circulantes mais frequentes investigados foram os 21, 128, 210, 221, 222 e 320. Os microRNAs circulantes 21, 221, 222 e 210 estavam hiperexpressos e os microRNA 128 hipoexpresso no sangue de pacientes com gliomas comparados a indivíduos saudáveis. **CONCLUSÃO:** Os microRNAs circulantes se mostraram como excelentes biomarcadores no diagnóstico de gliomas, com resultados significativos nos diferentes estudos incluídos. Nota-se, entretanto, a necessidade do desenvolvimento de estudos mais amplos e multicêntricos para validar esses biomarcadores e disponibilizá-los clinicamente.

PALAVRAS-CHAVE: MicroRNA Circulante; Glioma; Diagnóstico; Biomarcador.

INTRODUÇÃO

O termo glioma refere-se a tumores que apresentam características histológicas semelhantes às células gliais normais (ou seja, astrócitos, oligodendrócitos e células endimárias). Dentre os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC), os gliomas compõem a grande maioria dos casos, sendo que nos Estados Unidos incidência desses tumores é de 30 a cada 100.000 pessoas [1]. No Brasil, as estimativas de novos casos de câncer de SNC são de 5.870 casos em homens, com um risco estimado de 5,61 casos novos a cada 100 mil homens, e 5.220 casos em mulheres, com um risco estimado de 4,85 casos novos a cada 100 mil mulheres, para cada ano do triênio 2020 – 2022 [2]. Além disso, os gliomas são os tumores do SNC primários com a maior mortalidade [3].

Os sinais e sintomas dos gliomas dependem principalmente do tamanho, da classificação histopatológica e molecular, e da localização anatômica onde o tumor se encontra. Os sintomas possuem interferência direta das diferentes fases da doença, sendo mais prevalentes as convulsões, déficits cognitivos, sonolência, disfagia, cefaleia, afasia, déficits motores, fadiga e dispneia [4]. O pronto reconhecimento dos sintomas e o diagnóstico precoce são muito importantes, pois correlacionam com um melhor prognóstico, maior efetividade do tratamento e menor morbidade associada à doença [5].

Atualmente, o diagnóstico tumores do SNC é baseado em estudos de imagem e, para um diagnóstico mais preciso, é requerida amostra do tecido tumoral para a análise histopatológica e molecular, realizada através de biópsias, fato que representa um risco ao paciente, quando os gliomas estão localizados em zonas de difícil acesso [6]. Nesse sentido, sujeitar os doentes a uma série de biópsias invasivas é, na maioria das vezes, impraticável, pode ser doloroso, estressante e em alguns casos, anatomicamente desafiador e arriscado.

Os biomarcadores circulantes surgem, assim, como uma ferramenta complementar às tradicionais análises feitas por meio de biópsia. Captados através de um teste de sangue minimamente invasivo e prontamente disponíveis para amostragem sérica, biomarcadores

circulantes apresentam a capacidade de informar acerca da heterogeneidade do tumor e da sua evolução, embora ainda não seja possível determinar o quão útil podem ser na clínica [3].

Dentro desse contexto, biomarcadores que se apresentam como alternativa viável no momento são os microRNAs (miRNAs). A maioria dessas moléculas é conhecida pela especificidade, dependendo da fisiologia, do tecido e da doença em questão. Devido ao seu pequeno tamanho, os miRNAs são menos sensíveis à exposição às RNases e, portanto, são mais estáveis do que o RNA mensageiro. Além disso, tem sido demonstrado que estas moléculas atuam não só como supressores tumorais, mas também, como oncogenes. Por conseguinte, os níveis alterados de expressão de miRNAs exercem um grande impacto nos processos carcinogênicos [3].

Várias etapas da síntese e do mecanismo de ação dos miRNAs no controle da expressão gênica tornaram-se conhecidas nos últimos anos, permitindo o uso e a quantificação dessas moléculas em diferentes processos fisiopatológicos e experimentais [7] As principais etapas de biossíntese e ação dos miRNAs no controle da expressão gênica são ilustradas na figura 1.

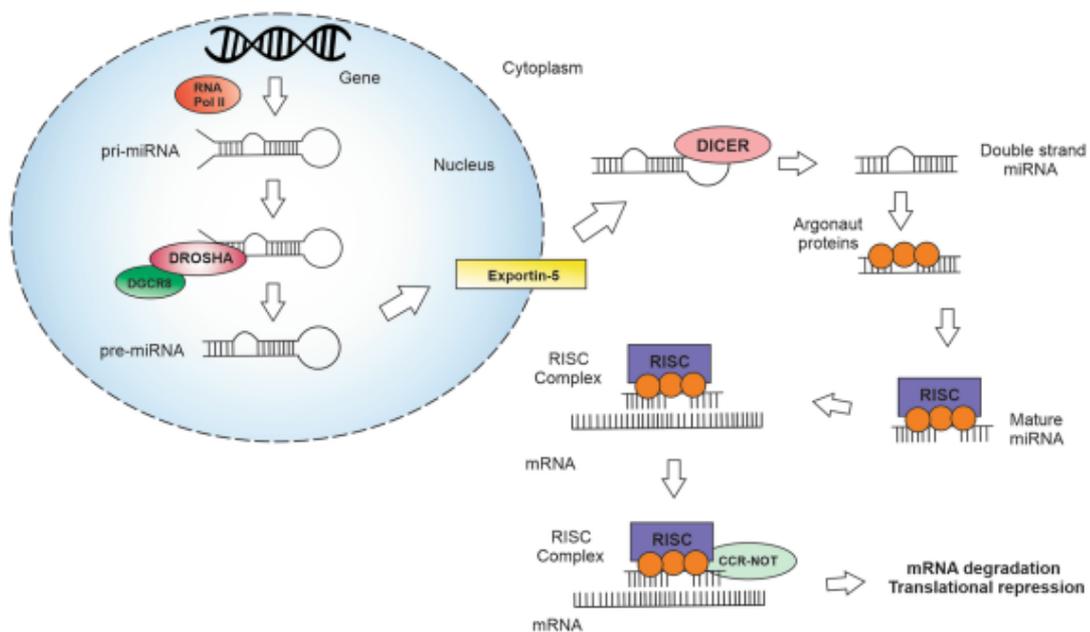


Figura 1: Biogênese dos microRNAs e proteínas envolvidas no processo (Adaptado de: dos Santos, I.L., Penna, K.G.B.D., dos Santos Carneiro, M.A. et al. Tissue micro-RNAs associated with colorectal cancer prognosis: a systematic review. Mol Biol Rep 48, 1853–1867 (2021).

OBJETIVOS

Objetivos Gerais

- Identificar os principais miRNAs circulantes capazes de auxiliar no diagnóstico de gliomas.

Objetivos Específicos

- Descrever distribuição geográfica e a casuística dos gliomas descritos nos estudos.
- Descrever os métodos de quantificação de miRNAs circulantes usados nos estudos.
- Identificar os miRNAs circulantes hipoexpressos ou hiperexpressos nos gliomas.
- Relacionar características clínicas com o perfil de miRNAs expressos.
- Identificar os miRNAs circulantes potencialmente usados no diagnóstico de gliomas.

METODOLOGIA

- **Desenho do estudo e estratégia de busca**

Esta revisão seguiu as recomendações do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) e compreende uma revisão sistemática da literatura feita por meio da busca de referências nas bases de dados PubMed/Medline sobre os estudos que avaliaram a importância da detecção de miRNAs circulantes no diagnóstico de gliomas. De acordo com MeSH, os termos usados na busca de estudos incluíram: (*serum microRNAs OR serum miRNAs AND gliomas AND diagnosis; blood microRNAs OR blood miRNAs AND gliomas AND diagnosis*). A busca foi feita em agosto de 2020 e limitada a artigos publicados em português, inglês ou espanhol. Ao final da busca, todos os resultados foram analisados e revisados para inclusão de publicações relevantes sobre o tema. O protocolo da revisão sistemática foi publicado no PROSPERO ID:CRD42021270328 e não foram introduzidas maiores modificações em relação ao protocolo registrado.

- **CrITÉRIOS de inclusão e exclusão**

A busca de estudos seguiu a estratégia PICO, na qual *P* se refere a população, pacientes com gliomas e controles; *I* se refere a intervenção/exposição, identificação e quantificação de miRNA circulantes nas duas condições; *C* se refere a comparação/controles, traduzido pelos níveis de miRNAs específicos no sangue de pacientes com gliomas e no sangue de controles saudáveis; *O* se refere ao desfecho (*outcome*) traduzido pela associação de miRNAs circulantes e o diagnóstico de gliomas.

Os critérios de inclusão dos estudos compreenderam: artigos completamente disponíveis online; artigos publicados em português, espanhol ou inglês; estudos que apresentavam metodologia clara e consistente com os objetivos e resultados; estudos pertencentes às categorias: ensaios clínicos randomizados, estudo de coorte, estudo de caso-controle, estudos transversais e série de casos; estudos nos quais o diagnóstico histopatológico dos gliomas tenha sido confirmado; estudos que fizeram a quantificação de miRNAs pelos métodos: qPCR, Northern Blot, microArray, replicação por círculo rolante e amplificação isotérmica mediada por loop.

- **Extração dos dados**

Os dados dos estudos foram extraídos seguindo um formulário de coleta elaborado pelos autores que continha: nome do primeiro autor, ano de publicação, local do estudo, tipo de estudo, casuística, microRNA estudado, níveis de expressão do microRNA (hiperexpresso ou hipoexpresso), controle endógeno usado na quantificação do microRNA, metodologia usada para quantificar o microRNA.

- **Análise dos dados**

Em função da heterogeneidade dos estudos incluídos e do grande número de miRNAs avaliados em estudos individuais não foi possível realizar uma análise ponderada para os dados extraídos. Dessa forma, os resultados são apresentados na forma de uma análise narrativa. A metanálise e avaliação de vieses não foi aplicada neste estudo. Os dados extraídos dos estudos e revisados foram apresentados em tabelas estruturadas do Microsoft® Excel® para Microsoft 365 versão 2018 e analisados por estatística descritiva.

RESULTADOS

• Seleção dos estudos

A busca de estudos nas bases de dados Pubmed/Medline resultou em 220 títulos. Após a leitura dos títulos, 32 duplicatas foram excluídas e 188 resumos foram selecionados para leitura. A análise dos resumos resultou na seleção de 66 artigos, que avaliaram a expressão de microRNAs associados ao diagnóstico de gliomas, para leitura completa. Após a leitura, foram excluídos 25 artigos que não atenderam aos critérios de inclusão. Ao final, 41 artigos foram incluídos na revisão sistemática. A Figura 2 descreve o processo de seleção dos estudos.

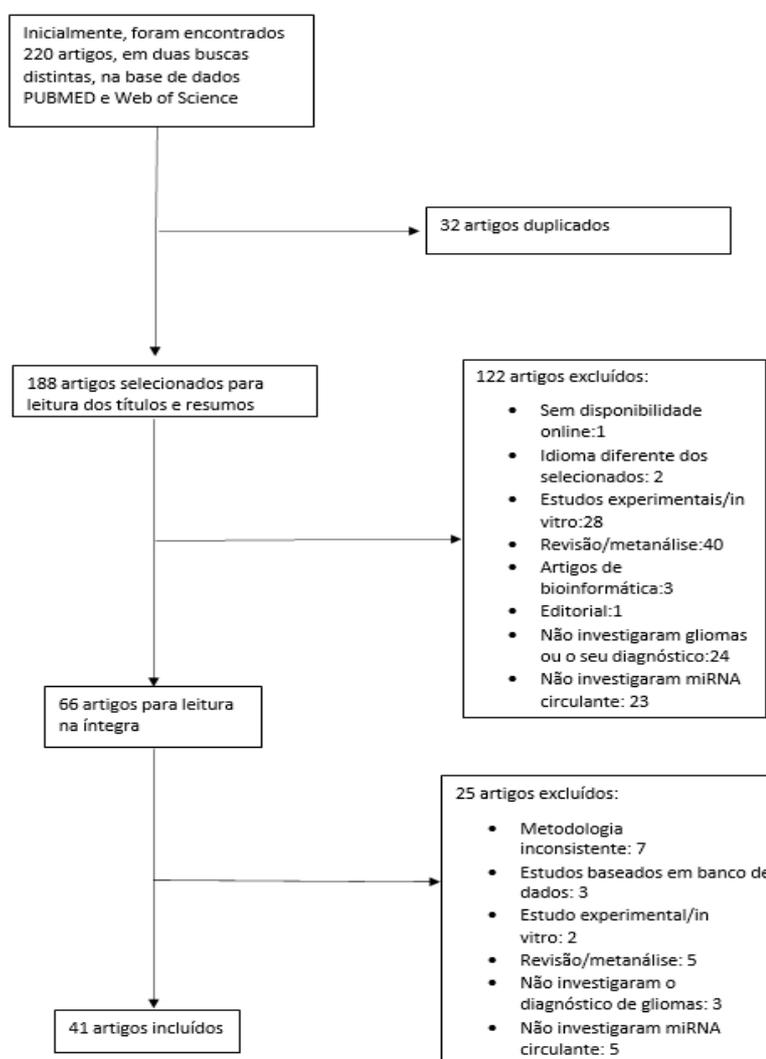


Figura 2: Fluxograma da seleção dos artigos

- **Características dos estudos selecionados**

No total, 3.186 pacientes com gliomas foram estudados nos 41 artigos incluídos e todos tiveram diagnóstico histopatológico de glioma confirmado. O número de pacientes variou de 6 a 241 pacientes por estudo. A idade dos participantes variou de 14 a 87 anos. Os grupos controles totalizaram 2.301 participantes, e o número de controles por estudo variou de 3 a 314. O sexo dos 5.487 participantes foi especificado em 34 estudos, sendo 2.056 participantes do sexo masculino e 1.584 do sexo feminino. Os estudos incluídos foram publicados no período de 2012 a 2020 e desenvolvidos em institutos de pesquisa, hospitais e universidades, sendo 32 realizados na China e um em cada um dos seguintes países: Alemanha, Áustria, Egito, Eslovênia, Espanha, França, Hungria, Itália e Turquia (Tabela 1).

Tabela 1: Descrição dos estudos incluídos na revisão sistemática

<i>Autor / ano</i>	<i>Origem dos casos</i>	<i>Pacientes com glioma</i>	<i>Grupo controle</i>	<i>Sexo masculino</i>	<i>Sexo feminino</i>	<i>Média das idades (anos)</i>
Zhang et al., 2019	China	169	50	85	32	NI
Lan et al., 2020	China	91	50	52	39	45 (19-52)
Li et al., 2020	China	50	50	26	24	52,7
Wang et al., 2012	China	30	10	14	16	48,3 (25-75)
Gozé et al., 2017	França	15	15	7	8	37,5 (26-62)
Sun et al., 2015	China	151	53	84	67	51,5 (15-79)
Swellam et al., 2019	Egito	20	20	29	6	NI
Ozdogan et al., 2020	Turquia	39	40	23	16	43,1
Zhu et al., 2019	China	122	68	77	45	34 ≤ 50 anos e 88 > 50 anos
Xu et al., 2020	China	137	21	83	54	31 ≤ 20 anos e 106 > 20 anos
Tang et al., 2017	China	74	74	39	35	35 < 50 anos e 39 > 50 anos
Wang et al., 2019	China	64	40	34	30	29 ≤ 55 anos e 35 > 55 anos
Min et al., 2016	China	41	10	NI	NI	NI
Liu et al., 2016	China	124	240	NI	NI	NI
Shao et al., 2015	China	70	70	36	34	47,2
Herman et al., 2015	Eslovênia	16	16	NI	NI	20 - 80 anos
Xiao et al., 2016	China	112	54	72	40	71 ≤ 40 anos e 41 > 50 anos
Géczi et al., 2021	Hungria	6	6	NI	NI	61,3 (52-69)
Zhang et al., 2015	China	50	51	29	21	51
Ilhan-Mutlu et al., 2012	Áustria	10	10	3	7	54,4
Tzaridis et al., 2020	Alemanha	55	10	NI	NI	56
Wang et al., 2019	China	100	100	83	17	NI
Lai et al., 2015	China	136	50	74	52	44
Zhang et al., 2018	China	95	60	62	33	58,6
Xing et al., 2017	China	57	57	NI	NI	NI
Wang et al., 2017	China	36	12	21	15	48 (16-76)
Wu et al., 2014	China	83	69	81	71	45,76
Santangelo et al., 2017	Itália	111	30	76	65	55,77
Yang et al., 2013	China	122	123	144	95	43,66
Zhi et al., 2015	China	163	110	140	133	50,04
Ohno et al., 2019	China	157	314	252	219	55 (14-87)
Li et al., 2016	China	64	64	35	29	36,26
Dong et al., 2014	China	3	3	NI	NI	NI
Lan et al., 2017	China	60	43	27	33	NI
Yue et al., 2015	China	64	45	56	53	45 (30-72)
Wei et al., 2014	China	33	33	40	26	44,1
Manterola et al., 2014	Espanha	75	55	72	58	61 (17 - 79)
Jin et al., 2017	China	49	30	43	36	NI
Tang et al., 2015	China	66	20	32	34	NI
Chai et al., 2016	China	166	75	55	111	NI
Huang et al., 2017	China	100	50	70	30	NI

NI = Não informado

- **Metodologia usada na quantificação de microRNAs circulantes nos estudos incluídos na revisão ssistemática**

De acordo com a metodologia dos estudos incluídos, foram observados 10 tipos de métodos de extração de RNA, sendo os mais comuns o TRIZOL reagente kit usado em 13 estudos, o MiRNeasy Kit usado em 10 estudos, o mirVana PARIS Isolatín Kit usado em sete estudos, miRcute miRNA Isolatín Kit em três estudos e ExoQuick Exosome Precipitation Solution usado em dois estudos. Os demais métodos foram usados em apenas um estudo cada.

Com relação aos métodos de quantificação dos microRNAs circulantes, foram usados qRT-PCR e/ou microarrays. Dentre eles, 37 estudos utilizaram somente qRT-PCR na quantificação de miRNAs circulantes, dois estudos utilizaram microarray e qRT-PCR e dois estudos utilizaram somente microarrays.

A tecnologia TaqMan foi usada em 18 estudos, assim como a tecnologia SyberGreen, que também foi usada em 18 estudos. Adicionalmente, dois estudos usaram EvaGreen, um usou Molecular Beacon e um não mencionou a tecnologia usada.

Ainda com relação aos métodos de quantificação dos microRNAs circulantes, 26 tipos de controles endógenos foram utilizados, sendo os mais comuns o U6 em 10 estudos, microRNA 39 em cinco estudos, microRNA 16 em cinco estudos, RNU6B em três estudos, microRNA 24 em dois estudos, RNU6 em dois estudos e RNU48 em dois estudos. As principais características dos métodos de quantificação dos microRNAs circulantes são descritas na Tabela 2.

Tabela 2: Descrição dos métodos de extração e quantificação dos microRNA circulantes

<i>Autor / ano</i>	<i>microRNA estudado</i>	<i>Controle endógeno</i>	<i>Método de extração de RNA</i>	<i>Método de quantificação do microRNA</i>	<i>Tecnologia de quantificação do microRNA</i>
Zhang et al., 2019	145-5p	miRNA 39	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Lan et al., 2020	210	miRNA 16	ExoQuick Exosome Precipitation Solution	qRT-PCR	SYBR GREEN
Li et al., 2020	873-5p	U6	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	EVA GREEN
Wang et al., 2012	21, 128, 342-3p	miRNA 295	miRcute miRNA isolation kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Gozé et al., 2017	93, 590-3p, 454	NI	PAXgene blood microRNAs kit	qRT-PCR	TaqMan
Sun et al., 2015	128	miRNA 39	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Swellam et al., 2019	221, 222	RNU6-2	NI	qRT-PCR	SYBR GREEN
Ozdogan et al., 2020	221	RNU6	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Zhu et al., 2019	193b	U6	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Xu et al., 2020	149	U87, U251 e LN229	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	TaqMan
Tang et al., 2017	122	U6	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Wang et al., 2019	124	U6	miRcute miRNA isolation kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Min et al., 2016	210HG	U6	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR e microarray	SYBR GREEN
Liu et al., 2016	29b	RNU6	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	TaqMan
Shao et al., 2015	454-3p		miRNeasy Kit	qRT-PCR	TaqMan
Herman et al., 2015	383, 603	RNU6B	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	TaqMan
Xiao et al., 2016	182	RNU6B	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	TaqMan
Gécsi et al., 2021	433-3p, 195-5p, 29a-3p	NI	miRNeasy kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Zhang et al., 2015	221, 222	miRNA 16	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	TaqMan
Ilhan-Mutlu et al., 2012	21	miRNA 192	miRNeasy kit	qRT-PCR	TaqMan
Tzaridis et al., 2020	15b-3p, 21-3p	miRNA 103a-3p e miRNA 484	miRNeasy kit	qRT-PCR	TaqMan
Wang et al., 2019	214	U6 e RNU48	TRIZOL reagent kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Lai et al., 2015	210	miRNA 16-1	miRcute miRNA Isolation Kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Zhang et al., 2018	100	miRNA 39	miRNeasy kit	qRT-PCR	SYBR GREEN
Xing et al., 2017	1825	RNU6B	miRCURY RNA Isolation Kit	qRT-PCR	SYBR GREEN

Wang et al., 2017	485-3p	miRNA 16	Plasma/Serum Circulating and Exosomal RNA Purification Kit	qRT-PCR e microarray	TaqMan
Wu et al., 2014	29	miRNA 24	MiRNeasy Kit	qRT-PCR	TaqMan
Santangelo et al., 2017	21, 222, 124-3p	RNAU6	TRIZOL reagente kit	qRT-PCR	TaqMan
Yang et al., 2013	15b, 23a, 133a, 150, 197, 497, 548b-5p	U6	TRIZOL reagente kit	qRT-PCR	TaqMan
Zhi et al., 2015	20a-5p, 106a-5p, 181b-5p, 19a-3p, 15b-5p, 16-5p, 19b-3p, 130a-3p, 208a-3p	NI	mirVana miRNA isolation Kit	qRT-PCR	TaqMan
Ohno et al., 2019	4763-3p, 1915-3p, 3679-5p	miRNA 149-3p, miRNA 2861 e miRNA 4463	RNA extraction reagent (3D-Gene System; Toray Industries, Inc)	Microarrays analysis	microarray
Li et al., 2016	137	NI	TRIZOL reagente kit	qRT-PCR	TaqMan
Dong et al., 2014	576-5p, 340, 626, 320, Let-7g-5p, 7-5p	miRNA 103, miRNA 191, miRNA 423-5p, U6, SNORD38B e SNORD49A	miRNeasy kits	Microarrays analysis	SYBR GREEN
Lan et al., 2017	301 ^a	miRNA 16	ExoQuick Exosome Precipitation Solution	qRT-PCR	TaqMan
Yue et al., 2015	205	miRNA 205 e miRNA 16	miRNeasy kits	qRT-PCR	TaqMan
Wei et al., 2014	125b	miRNA 24	miRNeasy kit	qRT-PCR	Não relatado
Manterola et al., 2014	320, 575-3p	RNU48	TRIZOL reagente kit	qRT-PCR	TaqMan
Jin et al., 2017	504	miRNA 39	miRNeasy kit	qRT-PCR	SYBR Green
Tang et al., 2015	185	miRNA 39, miRNA 238	mirVana PARIS isolation kit	qRT-PCR	SYBR Green
Chai et al., 2016	199a-3p	U6	mirVana PARIS isolation Kit	qRT-PCR	MOLECULAR BEACON
Huang et al., 2017	376a, 376b, 376c	U6	TRIZOL reagente kit	qRT-PCR	EVA GREEN

NI = Não informado

• **MicroRNAs circulantes e o diagnóstico de gliomas**

Os estudos incluídos demonstraram a associação entre os níveis de expressão de 68 microRNAs circulantes e o diagnóstico de gliomas, sendo 38 microRNAs hiperexpressos [Figura 3] e 31 hipoexpressos na circulação dos pacientes com glioma em relação a controles saudáveis [Figura 4].

Os microRNAs 21, 128, 210, 221, 222 e 320 foram analisados em mais de um estudo, sendo os microRNAs 21 [10, 26 e 34], 221 [13, 14 e 25] e 222 [13, 25 e 34] avaliados em três estudos e os microRNAs 128 [10 e 12], 210 [8 e 29] e 320 [39 e 43] avaliados em dois estudos. Os demais microRNAs foram investigados apenas em um estudo cada.

Em relação aos níveis de expressão dos microRNAs circulantes, os microRNAs 21, 221, 222 e 210 estavam hiperexpressos em pacientes com gliomas em todos os estudos avaliados. Já o microRNA 128 mostrou-se hipoexpresso em pacientes com gliomas, nos dois estudos avaliados. O microRNA 320 apresentou resultados divergentes, uma vez que um estudo mostrou hiperexpressão [43], enquanto outro mostrou hipoexpressão [39] em pacientes com gliomas (Tabela 3). Os microRNAs circulantes hiperexpressos e os microRNA hipoexpressos em pacientes com gliomas são esquematizados na Figura 3 e Figura 4, respectivamente.

Tabela 3: Descrição dos microRNA circulantes hipoexpressos e hiperexpressos em pacientes com gliomas

<i>Autor / ano</i>	<i>microRNA estudado</i>	<i>Expressão em pacientes com glioma</i>
Zhang et al., 2019	145-5p	hipoexpresso
Lan et al., 2020	210	hiperexpresso
Li et al., 2020	873-5p	hipoexpresso
Wang et al., 2012	21, 128, 342-3p	hiperexpresso (21); hipoexpresso (128 e 342-3p)
Gozé et al., 2017	93, 590-3p, 454	hiperexpresso
Sun et al., 2015	128	hipoexpresso
Swellam et al., 2019	221, 222	hiperexpresso
Ozdogan et al., 2020	221	hiperexpresso
Zhu et al., 2019	193b	hiperexpresso
Xu et al., 2020	149	hipoexpresso
Tang et al., 2017	122	hipoexpresso
Wang et al., 2019	124	hipoexpresso
Min et al., 2016	210HG	hiperexpresso
Liu et al., 2016	29b	hiperexpresso
Shao et al., 2015	454-3p	hiperexpresso
Herman et al., 2015	383, 603	hipoexpresso (383); hiperexpresso (603)
Xiao et al., 2016	182	hiperexpresso
Géczi et al., 2021	433-3p, 195-5p e 29a-3p	hiperexpresso
Zhang et al., 2015	221, 222	hiperexpresso
Ilhan-Mutlu et al., 2012	21	hiperexpresso
Tzaridis et al., 2020	15b-3p, 21-3p	hiperexpresso
Wang et al., 2019	214	hiperexpresso
Lai et al., 2015	210	hiperexpresso
Zhang et al., 2018	100	hipoexpresso
Xing et al., 2017	1825	hipoexpresso
Wang et al., 2017	485-3p	hipoexpresso
Wu et al., 2014	29	hiperexpresso
Santangelo et al., 2017	21, 222, 124-3p	hiperexpresso
Yang et al., 2013	15b, 23a, 133a, 150, 197, 497, 548b-5p	hipoexpresso
Zhi et al., 2015	20a-5p, 106a-5p, 181b-5p, 19a-3p, 15b-5p, 16-5p, 19b-3p, 130a-3p, 208a-3p	hiperexpressos
Ohno et al., 2019	4763-3p, 1915-3p, 3679-5p	hiperexpresso (4763-3p e 1915-3p); hipoexpresso (3679-5p)
Li et al., 2016	137	hipoexpresso
Dong et al., 2014	576-5p, 340, 626, 320, Let-7g-5p, 7-5p	hiperexpresso (576-5p, 340 e 626); hipoexpresso (320, let-7g-5p e 7-5P)
Lan et al., 2017	301*	hiperexpresso
Yue et al., 2015	205	hipoexpresso
Wei et al., 2014	125b	hipoexpresso
Manterola et al., 2014	320, 575-3p	hiperexpresso
Jin et al., 2017	504	hipoexpresso
Tang et al., 2015	185	hipoexpresso
Chai et al., 2016	199a-3p	hipoexpresso
Huang et al., 2017	376a, 376b, 376c	hipoexpresso

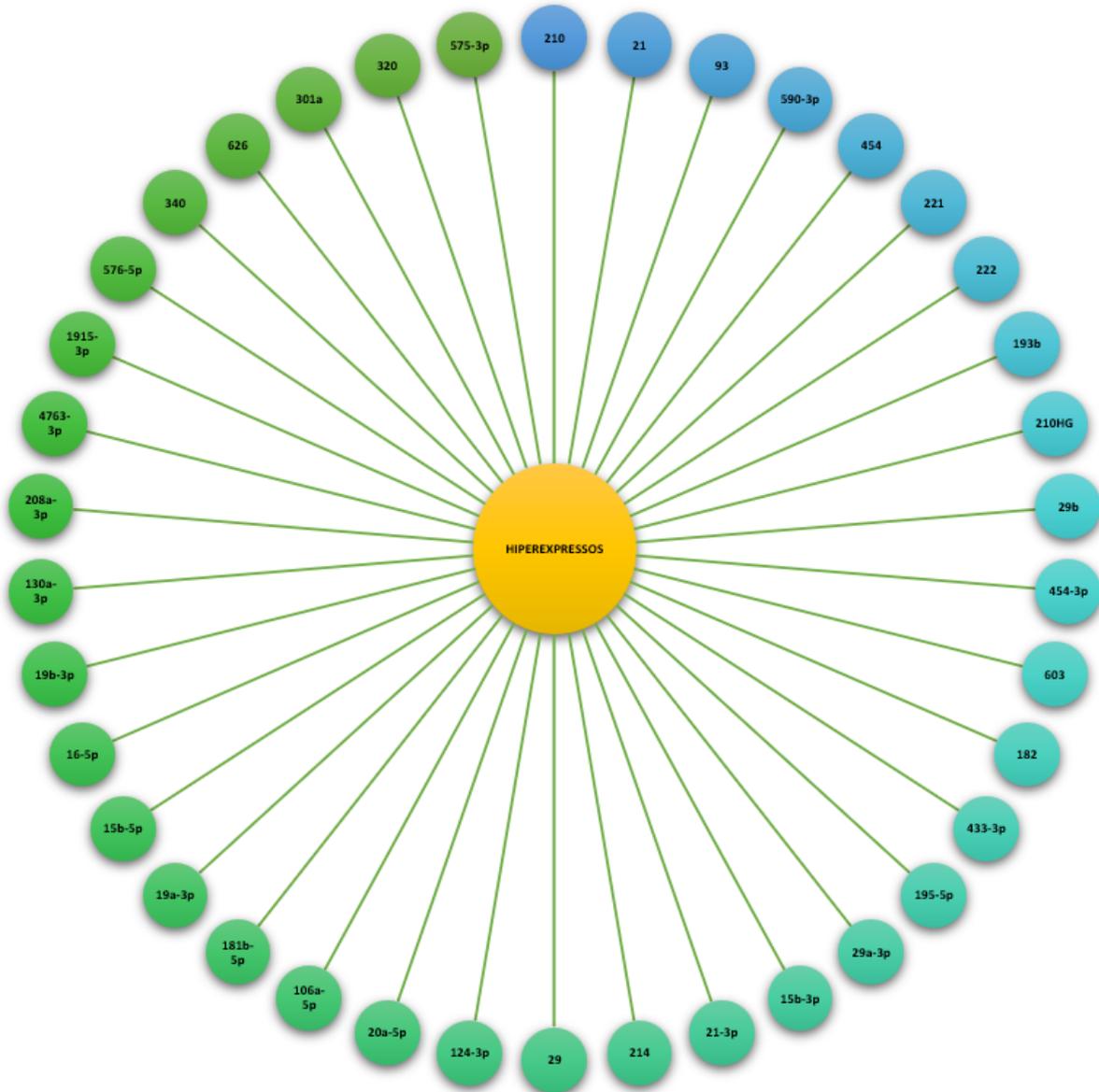


Figura 3: MicroRNAs circulantes hiperexpressos em pacientes com gliomas

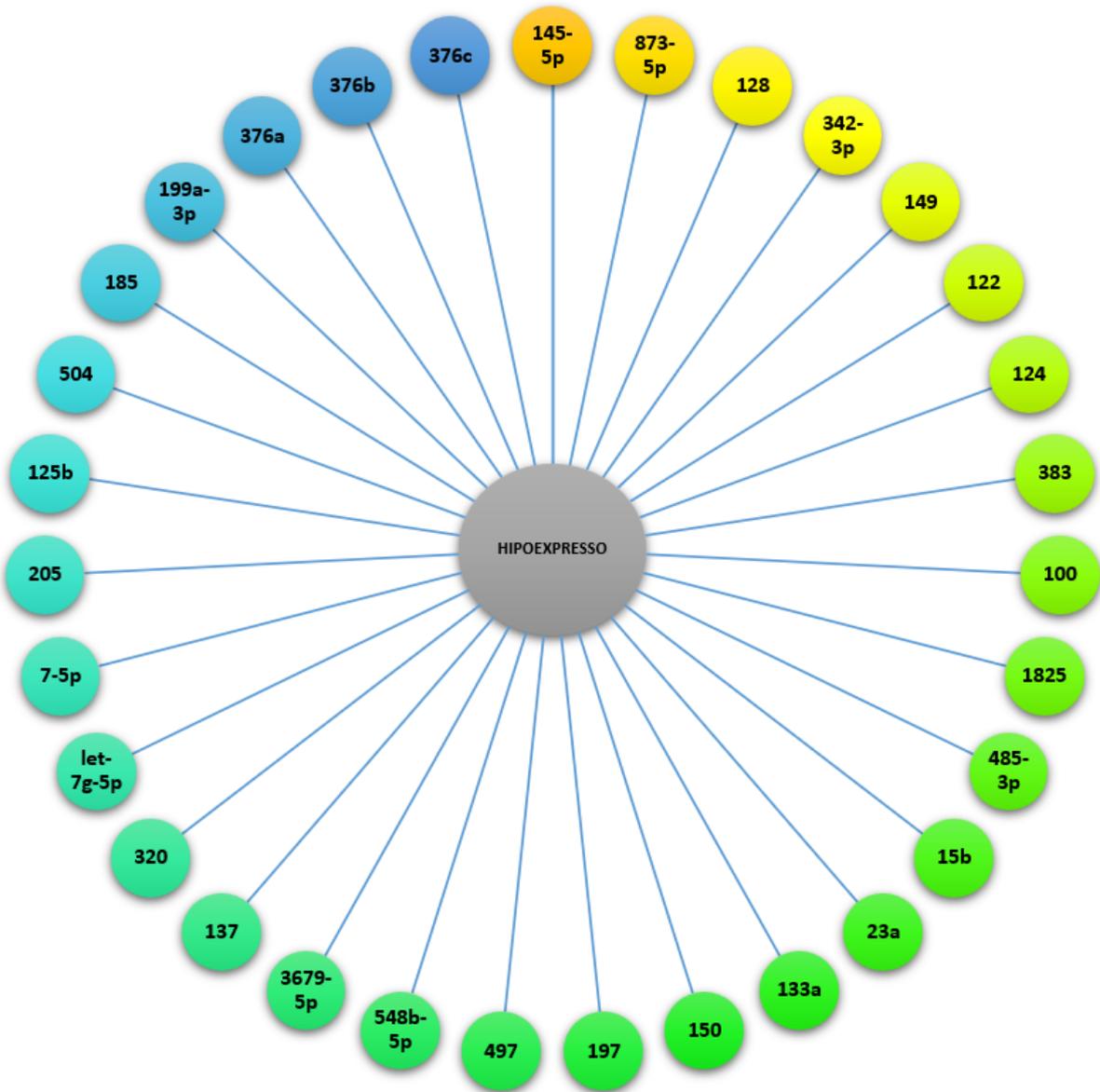


Figura 4: MicroRNAs circulantes hipoexpressos em pacientes com gliomas

DISCUSSÃO

O diagnóstico dos tumores de sistema nervoso central, atualmente, baseia-se em estudos de imagem e, para uma maior acurácia, na análise histopatológica do espécime tumoral. No entanto, a forma atual de diagnóstico é, muitas vezes, extremamente desgastante, pois sujeita o paciente a diversas biópsias invasivas, pode ser um processo doloroso e em alguns casos é algo anatomicamente desafiador, com diversos riscos inerentes [6]. Dessa forma, a pesquisa de biomarcadores circulantes para o diagnóstico de gliomas é imprescindível e factível [3].

Diversas evidências têm demonstrado a desregulação de miRNAs no câncer, através de mecanismos, como amplificação ou deleção de genes que codificam miRNAs, controle anormal da transcrição de miRNAs e desregulação epigenética. Dessa forma, a desregulação da expressão de miRNAs têm sido associada às principais características das células tumorais (*cancer hallmarks*), incluindo sinalização sustentada da proliferação celular, inibição de supressores do crescimento, diminuição da morte celular, ativação de vias de invasão e metástase, aumento da angiogênese, entre outras [44]. Os microRNAs podem ser secretados para o espaço extracelular e então transportadas para a circulação periférica, na forma encapsulada de vesícula extracelulares ou ligadas à lipoproteínas, fato que as tornam estáveis e resistentes à ação das RNases. Desse modo, é possível encontrar um perfil de miRNAs correspondentes a um determinado câncer na circulação periférica [45].

O presente estudo revisou e resumiu achados de um total de 3.186 pacientes com gliomas e 68 miRNAs circulantes, quantidade essa, que não foi observada em nenhum outro estudo durante a busca na literatura. Outra vantagem do nosso estudo, é o fato de avaliarmos somente miRNAs circulantes, ao contrário de miRNAs teciduais, que apesar de boa sensibilidade e especificidade, não agregam para a identificação de biomarcadores moleculares circulantes e pouco contribuem para a mudança do cenário atual de diagnóstico dos gliomas, pois continuam dependendo de biópsias. Além disso, diferente de outros estudos, nossa revisão sistemática focou somente nos gliomas, tendo em vista as dificuldades de diagnóstico observadas nesse tipo de tumor.

Três estudos de revisão sistemática foram encontrados na base de dados PubMed, usando os termos: *glioma diagnosis circulating miRNA* [51-53]. Dois destes [51,52] possuem metodologia e objetivos semelhantes aos nossos, no entanto, avaliaram capacidade diagnóstica de um ‘pool’ de microRNAs e não a capacidade isolada de microRNAs individualmente. Um desses estudos [51] avaliou outros tipos de câncer de SNC, além dos gliomas, e teve como principais microRNAs descritos, o miR21, miR221 e miR222, em acordo com os nossos resultados. Além disso, tanto nosso estudo, quanto os dois citados chegaram a conclusões semelhantes. Um terceiro estudo também foi encontrado [53], e focou na pesquisa do miRNA-21, porém, foram incluídos diversos tipos de tumores, sendo os gliomas pesquisados em somente um estudo.

Ao avaliar os resultados obtidos, foi observada a discrepância nos resultados de quantificação de somente um miRNA circulante. O miRNA 320 [39 e 43] foi descrito como hiperexpresso em um estudo [43] e hipoexpresso em outro [39]. Esta discrepância parece ser decorrente dos diferentes métodos de quantificação usados, vez que um estudo usou microarray e o outro utilizou RT-PCR.

Algumas limitações podem ser apontadas nesta revisão sistemática, como a origem dos estudos incluídos, ou seja, a grande maioria dos estudos foi desenvolvida na China (32 estudos), o que limita a diversidade genética da população estudada. Outro fato, foi a limitação da língua, já que todos os estudos incluídos foram publicados em inglês. Por último, consideramos também como limitação, mas um aspecto passível de ser implementado, o pequeno número de estudos investigando um mesmo miRNA, fato que diminui a consistência dos resultados e inviabiliza a realização de metanálise.

Julgamos nosso estudo como um primeiro e importante passo para o diagnóstico preciso e menos invasivo dos gliomas. No entanto, ainda são necessários estudos multicêntricos, incluindo maior número de participantes de diferentes regiões geográficas, com etnias diferentes e com maior variação genética, contemplando diversos estágios da doença, com o objetivo de avaliar a acurácia real desses novos biomarcadores no diagnóstico dos gliomas.

Concluimos, portanto, que os miRNAs circulantes apresentam importante potencial para serem usados no diagnóstico dos tumores, mais especificamente dos gliomas. Os resultados deste estudo sugerem que esses biomarcadores podem se tornar uma alternativa

rápida, acessível e menos arriscada para o diagnóstico dessas neoplasias. Dessa forma, o desenvolvimento de novos estudos que deem continuidade aos nossos achados é de grande importância para concretizar a inserção desses biomarcadores na prática clínica.

CONCLUSÕES

- Vários estudos investigaram o potencial dos microRNAs circulantes no diagnóstico dos gliomas, nos dez últimos anos, e a grande maioria desses estudos foi desenvolvida na China.
- Os métodos de extração de RNA para quantificação de microRNAs circulantes mais utilizados são o TRIZOL reagente kit, o MiRNeasy Kit e o mirVana PARIS Isolatín Kit.
- Com relação aos métodos de quantificação dos microRNAs circulantes, a qRT-PCR ainda é o método mais reportado nos estudos avaliados, utilizando tanto a tecnologia TaqMan, como a SyberGreen.
- Com base nos resultados desta revisão sistemática, 68 microRNAs circulantes se mostraram úteis no diagnóstico de gliomas, sendo 38 microRNAs hiperexpressos e 31 hipoexpressos na circulação dos pacientes com gliomas em relação aos controles saudáveis.
- A respeito dos níveis de expressão dos microRNAs circulantes, os microRNAs 21, 221, 222 e 210 estavam hiperexpressos em pacientes com gliomas em todos os estudos avaliados, enquanto o microRNA 128 mostrou-se hipoexpresso em pacientes com gliomas, em dois estudos avaliados.
- Nossos resultados permitem concluir que os microRNAs circulantes representam importantes ferramentas com potencial para o uso no diagnóstico dos gliomas, mas que estudos multicêntricos envolvendo pacientes de diferentes etnias e perfis genéticos diversos ainda são necessários, a fim de incluir esses marcadores na prática clínica.

REFERÊNCIAS

1. dos Santos IL, Penna KGBD, dos Santos Carneiro MA, Libera LSD, Ramos JEP, Saddi VA. Tissue micro-RNAs associated with colorectal cancer prognosis: a systematic review. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2021 Feb [cited 2022 May 18]; 48(2):1853–67. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11033-020-06075-1>
2. Ostrom QT, Gittleman H, Truitt G, Boscia A, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol*. 2018 Oct 1;20(suppl_4):iv1-iv86. doi: 10.1093/neuonc/noy131. Erratum in: *Neuro Oncol*. 2018 Nov 17;:null. PMID: 30445539; PMCID: PMC6129949.
3. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, Rio de Janeiro: INCA. 2020.
4. GASPAR, Beatriz Marques. Biomarcadores em Gliomas: Conhecimento Atual e Perspectivas Futuras. 2016. 39 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.
5. IJZERMAN-KOREVAAR, Margriet; SNIJDERS, Tom J.; DE GRAEFF, Alexander; et al. Prevalence of symptoms in glioma patients throughout the disease trajectory: a systematic review. *Journal of Neuro-Oncology*, v. 140, n. 3, p. 485–496, 2018.
6. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA, Rio de Janeiro: INCA. 2021.
7. Ma M, Li J, Zhang Z, Sun J, Liu Z, Zeng Z, Ouyang S, Kang W. The Role and Mechanism of microRNA-1224 in Human Cancer. *Front Oncol*. 2022 Apr 14;12:858892. doi: 10.3389/fonc.2022.858892. PMID: 35494023; PMCID: PMC9046935.
8. LIANG, Shufang; SHEN, Guobo. Biomarkers of Glioma. *Molecular Targets of CNS Tumors*, 2011.
9. ZHANG, Yao; TA, Wei-Wei; SUN, Peng-Fei; et al. Diagnostic and prognostic significance of serum miR-145-5p expression in glioblastoma. *International journal of clinical and experimental pathology*, v. 12, n. 7, p. 2536–2543, 2019
10. FENGMING, L. A.N.; XIAO, Y. U.E.; TINGYI, X. I.A. Exosomal microRNA–210 is a potentially non–invasive biomarker for the diagnosis and prognosis of glioma. *Oncology Letters*, v. 19, n. 3, p. 1967–1974, 2020.

11. LI, Ke; ZHANG, Qi; NIU, Duan; et al. Mining miRNAs' Expressions in Glioma Based on GEO Database and Their Effects on Biological Functions. *BioMed Research International*, v. 2020, 2020.
12. WANG, Qiong; LI, Pengcun; LI, Ailin; et al. Plasma specific miRNAs as predictive biomarkers for diagnosis and prognosis of glioma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, v. 31, n. 1, p. 1, 2012.
13. GOZE, Catherine; DUFFAU, Hugues. Pilot Study of Whole Blood MicroRNAs as Potential Tools for Diffuse Low-Grade Gliomas Detection. 2017.
14. SUN, Jun; LIAO, Keman; WU, Xuechao; et al. Serum microRNA-128 as a biomarker for diagnosis of glioma. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, v. 8, n. 1, p. 456–463, 2015.
15. SWELLAM, Menha; EZZ EL ARAB, Lobna; AL-POSTTANY, Amr S.; et al. Clinical impact of circulating oncogenic MiRNA-221 and MiRNA-222 in glioblastoma multiforme. *Journal of Neuro-Oncology*, v. 144, n. 3, p. 545–551, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11060-019-03256-2>>.
16. OZDOGAN, SELCUK; YALTIRIK, CUMHUR KAAAN; YILMAZ, SEDA GULEC; et al. Investigation of the Effects of MicroRNA-221 Expression Levels in Glioblastoma Multiforme Tumors. *Anticancer Research*, v. 40, n. 6, p. 3265–3270, 2020.
17. ZHU, Mingtao; ZHAO, Wei; ZHAO, Hui; et al. Diagnostic and prognostic value of microrna-193b in patients with glioma and its effect on tumor progression. *Oncology Letters*, v. 18, n. 5, p. 4882–4890, 2019.
18. XU, Binchu; LUO, Xinlin; NING, Xinjie; et al. MiR-149 rs2292832 C allele enhances the cytotoxic effect of temozolomide against glioma cells. *NeuroReport*, p. 498–506, 2020.
19. TANG, Ying; ZHAO, Shunfeng; WANG, Jiliang; et al. Plasma miR-122 as a potential diagnostic and prognostic indicator in human glioma. *Neurological Sciences*, v. 38, n. 6, p. 1087–1092, 2017.
20. WANG, L. Q.; SUN, W.; WANG, Y.; et al. Downregulation of plasma miR-124 expression is a predictive biomarker for prognosis of glioma. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, v. 23, n. 1, p. 271–276, 2019.
21. MIN, Weijie; DAI, Dongwei; WANG, Jiaqi; et al. Long noncoding RNA miR210HG as a potential biomarker for the diagnosis of glioma. *PLoS ONE*, v. 11, n. 9, p. 1–11, 2016.

22. LIU, Qiang; LIAO, Fan; WU, Hao; et al. Different expression of miR-29b and VEGFA in glioma. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, v. 44, n. 8, p. 1927–1932, 2016.
23. SHAO, Naiyuan; WANG, Lei; XUE, Lian; et al. Plasma miR-454-3p as a potential prognostic indicator in human glioma. *Neurological Sciences*, v. 36, n. 2, p. 309–313, 2015
24. HERMAN, Ana; GRUDEN, Kristina; BLEJEC, Andrej; et al. Analysis of Glioblastoma Patients ' Plasma Revealed the Presence of MicroRNAs with a Prognostic Impact on Survival and Those of Viral Origin. p. 1–20, 2015.
25. XIAO, Yilei; ZHANG, Lina; SONG, Zikun; et al. Potential diagnostic and prognostic value of plasma circulating microrna-182 in human glioma. *Medical Science Monitor*, v. 22, p. 855–862, 2016.
26. NAGY, B; SZIL, Melinda; KLEKNER, Á; et al. Analysis of Circulating miRNA Profile in Plasma Samples of Glioblastoma Patients. 2021
27. ZHANG, Rui; PANG, Bo; XIN, Tao; et al. Plasma miR-221 / 222 Family as Novel Descriptive and Prognostic Biomarkers for Glioma. n. 324, 2015.
28. MAROSI, Christine; PREUSSER, Matthias. Plasma MicroRNA-21 Concentration May Be a Useful Biomarker in Glioblastoma Patients. n. 13, p. 615–621, 2012.
29. TZARIDIS, Theophilos; REINERS, Katrin S; WELLER, Johannes; et al. Analysis of Serum miRNA in Glioblastoma Patients : CD44-Based Enrichment of Extracellular Vesicles Enhances Specificity for the Prognostic Signature. 2020.
30. WANG, Jinfeng; CHE, Fengyuan; ZHANG, Jinling; et al. Diagnostic and Prognostic Potential of Serum Cell-Free microRNA-214 in Glioma. *World Neurosurgery*, p. 1–9, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.02.009>>.
31. LAI, N-s; WU, D-g; FANG, X-g; et al. Serum microRNA-210 as a potential noninvasive biomarker for the diagnosis and prognosis of glioma. n. March, p. 1241–1246, 2015.
32. ZHANG, Huiping; WANG, Jianfeng; WANG, Zhanying; et al. Serum miR-100 is a potential biomarker for detection and outcome prediction of glioblastoma patients uncorrected proof veorre uncoct prer. v. 1, p. 1–7, 2018.
33. XING, Wenli; ZENG, Chun. A novel serum microRNA-based identification and classification biomarker of human glioma. 2017.
34. WANG, Zhi-qiang; ZHANG, Mei-yin; DENG, Mei-ling; et al. Low serum level of miR-485-3p predicts poor survival in patients with glioblastoma. p. 1–11, 2017.

35. WU, Junhua; LI, Liwen; JIANG, Chunping. Identification and Evaluation of Serum MicroRNA-29 Family for Glioma Screening. 2014.
36. SANTANGELO, Alessandra; IMBRUCÈ, Pietro; GARDENGHI, Beatrice; et al. A microRNA signature from serum exosomes of patients with glioma as complementary diagnostic biomarker. *Journal of Neuro-Oncology*, v. 0, n. 0, p. 0, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11060-017-2639-x>>.
37. YANG, Cuihua; WANG, Cheng; CHEN, Xi; et al. Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. v. 127, p. 116–127, 2013.
38. ZHI, Feng; SHAO, Naiyuan; WANG, Rong; et al. Identification of 9 serum microRNAs as potential noninvasive biomarkers of human astrocytoma. *Neuro-Oncology*. v. 17, n. August 2014, p. 383–391, 2015.
39. OHNO, Makoto; MATSUZAKI, Juntaro; KAWAUCHI, Junpei; et al. Assessment of the Diagnostic Utility of Serum MicroRNA Classification in Patients With Diffuse Glioma. v. 2, n. 12, p. 1–12, 2019.
40. LI, H; LI, Y; LI, Y; et al. Circulating microRNA-137 is a potential biomarker for human glioblastoma. v. 626, p. 3599–3604, 2016.
41. DONG, L U N; LI, Yuping; HAN, Chongxu; et al. miRNA microarray reveals specific expression in the peripheral blood of glioblastoma patients. p. 746–756, 2014.
42. LAN, Fengming; QING, Qin; PAN, Qiang; et al. Serum exosomal miR-301a as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. p. 1–9, 2017
43. YUE, Xiao; LAN, Fengming; HU, Man; et al. Downregulation of serum microRNA-205 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for human glioma. n. Grant 81201973, p. 1–7, 2015.
44. WEI, Xiangtai; CHEN, Duo; LV, Tao; et al. Serum MicroRNA-125b as a Potential Biomarker for Glioma Diagnosis. 2014.
45. JAUREGUI, Patricia; MANTEROLA, Lorea; GURUCEAGA, Elizabeth; et al. *Neuro-Oncology*. v. 16, n. July 2013, p. 520–527, 2014.
46. JIN, Zheng; JIN, Ri-hua; MA, Chi; et al. Serum expression level of miR-504 can differentiate between glioblastoma multiforme and solitary brain metastasis of non-small cell lung carcinoma. v. 22, n. 71, p. 474–480, 2017.
47. TANG, Hailin et al. Plasma miR - 185 as a predictive biomarker for prognosis of malignant glioma. v. 11, n. 3, 2015.

48. CHAI, C; SONG, L; YANG, B; et al. Circulating miR-199a-3p in plasma and its potential diagnostic and prognostic value in glioma. p. 4885–4890, 2016.
49. HUANG, Qing; WANG, Changjiang; HOU, Ziming; et al. Serum microRNA-376 family as diagnostic and prognostic markers in human gliomas co rre ct pr oo f v er si o n un un co rre ct ed pr oo. v. 1, p. 1–8, 2017.
50. Peng Y, Croce CM. The role of MicroRNAs in human cancer. *Sig Transduct Target Ther* [Internet]. 2016 Dec [cited 2022 May 15];1(1):15004. Available from: <http://www.nature.com/articles/sigtrans20154>
51. Cui M, Wang H, Yao X, Zhang D, Xie Y, Cui R, et al. Circulating micrnas in cancer: potential and challenge. *Front Genet* [Internet]. 2019 Jul 18 [cited 2022 May 15]; 10:626. Available from: <https://www.frontiersin.Org/article/10.3389/fgene.2019.00626/full>
52. Amir Hossein Aalami, Hossein Abdeahad, Ali Shoghi, Mohammad Mesgari, Amir Amirabadi & Amirhossein Sahebkar (2022) Brain tumors and circulating micrnas: a systematic review and diagnostic meta-analysis, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 22:2, 201-211, DOI: 10.1080/14737159.2022.2019016
53. He J, Jiang Y, Liu L, Zuo Z, Zeng C. Circulating MicroRNAs as Promising Diagnostic Biomarkers for Patients With Glioma: A Meta-Analysis. *Front Neurol*. 2021 Feb 1;11:610163. doi: 10.3389/fneur.2020.610163. PMID: 33597912; PMCID: PMC7882507.
54. Wang Y, Gao X, Wei F, Zhang X, Yu J, Zhao H, Sun Q, Yan F, Yan C, Li H, Ren X. Diagnostic and prognostic value of circulating miR-21 for cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gene*. 2014 Jan 1;533(1):389-97. doi: 10.1016/j.gene.2013.09.038. Epub 2013 Sep 26. PMID: 24076132.