

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INFECÇÃO HIV / AIDS E HEPATITES VIRAIS
MESTRADO PROFISSIONAL – PPGHIV/HV**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Revisão Sistemática da função do microRNA-122 como
biomarcador no Sangue e Fígado de Pacientes com Hepatite C**

Eduardo Nazaré da Costa Gaia

RIO DE JANEIRO

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INFECÇÃO HIV / AIDS E HEPATITES VIRAIS
MESTRADO PROFISSIONAL – PPGHIV/HV

**Revisão Sistemática da função do microRNA-122 como
biomarcador no Sangue e Fígado de Pacientes com Hepatite C**

Eduardo Nazaré da Costa Gaia

*Sob a Orientação do Professor
Carlos Eduardo Brandão Mello*

Dissertação submetida como requisito parcial para
obtenção do Grau de Mestre em Infecção HIV /
AIDS e Hepatites virais na Área de Doenças
Infecciosas e Parasitárias.

**Rio de Janeiro
2023**

UNIRIO

Eduardo Nazaré da Costa Gaia

2023

G137

Gaia, Eduardo Nazaré da Costa
Revisão Sistemática da função do microRNA-122
como biomarcador no Sangue e Fígado de Pacientes com
Hepatite C / Eduardo Nazaré da Costa Gaia. -- Rio
de Janeiro, 2023.
50

Orientador: Carlos Eduardo Brandão-Mello.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
em Infecção HIV/AIDS e Hepatites Virais, 2023.

1. Hepatite C. 2. microRNAs. 3. microRNAs - uso
terapêutico. 4. microRNAs - biomarcadores. 5.
microRNA-122. I. Brandão-Mello, Carlos Eduardo,
orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INFECÇÃO HIV / AIDS E HEPATITES VIRAIS
MESTRADO PROFISSIONAL – PPGHIV/HV

Eduardo Nazaré da Costa Gaia

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em **Infecção HIV/AIDS e Hepatites Virais na área de DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS.**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 14/03/2023.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Brandão Mello.
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO.

Prof. Dr. Luiz Claudio Pereira Ribeiro
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO.

Prof. Dr. Marcelle Bottechia.
Fundação Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.

Prof. Dr. Eduardo de Matos Nogueira
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO. (Suplente)

Prof. MSc. Cassia Cristina Alves Gonçalves.
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro/UNIRIO. (Suplente)

Agradeço e dedico este trabalho a minha amada esposa Lucia, por todo o apoio e incentivos, tanto nas horas difíceis como nas realizações, mostrando nossa unidade e fazendo parte integral de todos os nossos conhecimentos e realizações, com muito carinho e afeto.

RECONHECIMENTO E GRATIDÃO

Toda estrutura e desenvolvimento do trabalho eu devo ao meu orientador, o Professor Doutor Carlos Eduardo Brandão Mello, que dedicou sua carreira profissional ao estudo das Hepatites Virais nas várias etapas evolutivas das terapias de tratamento e no sucesso das curas atuais, da Hepatite C em especial.

Aos ensinamentos e técnicas para meu desenvolvimento nos ensaios biomoleculares necessários para os objetivos deste trabalho ministrados pelo Professor Doutor Eduardo Nogueira.

Aos Professores Doutor Fernando Raphael de Almeida Ferry, Doutora Fabiana Barbosa Assumpção de Souza e a todos os professores das disciplinas do Mestrado Profissional de HIV e Hepatites Virais, o PPGHIV/HV, UNIRIO pelos aprendizados avançados em pesquisas científicas.

A todo o corpo técnico do ambulatório de Gastroenterologia do Hospital Universitário Gafrée & Guinle, HUGG, sem o qual não seria possível a obtenção dos dados para a minha pesquisa tanto teórica quanto prática.

A bibliotecária/IB-UNIRIO, Mestre Maguel Souza e sua equipe pelo apoio incansável para a pesquisa bibliográfica necessária.

A professora Dra Martha Martinez Silveira, Fiocruz-Salvador, pelos ensinamentos sobre as revisões sistemáticas muito esclarecedores.

EPÍGRAFE

"Há um Deus que é todo bondade, todo sabedoria, deve haver, por ele criado, um meio certo de curar as enfermidades..."

Christian Friedrich Samuel Hahnemann

RESUMO

Gaia, Eduardo Nazaré da Costa. Revisão sistemática sobre a avaliação das funções dos microRNAs como biomarcador no sangue e no fígado de pacientes com hepatite C. 2023. 50 páginas. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2023.

Até 2015, o índice de sucesso dos melhores recursos para tratamento da Hepatite C ficava abaixo dos 50% e com diversos efeitos colaterais indesejados. Em 2013/2014 diversas pesquisas científicas apontavam para o destaque dos microRNAs (miRNAs) na evolução e tratamento das doenças hepáticas, concomitantes com o sucesso do lançamento dos agentes antivirais de ação direta (DAAs) que elevaram as taxas de cura para 95% dos pacientes. Neste contexto, o objetivo desta revisão é destacar a produção literária científica sobre o microRNA-122 como biomarcador no sangue e no fígado de pacientes, tanto na evolução quanto no tratamento da Hepatite C. O método utilizado foi através de uma Revisão Sistemática (RS). A questão clínica PICO foi: “Quais são as funções dos miRNAs, circulantes no sangue e no fígado, quanto a evolução da doença e o tratamento de pacientes com hepatite C crônica?” A busca bibliográfica, de ensaios clínicos publicados entre 2000 e 2022, considerou as bases de dados Pubmed, Cochrane, BVS, EMBASE e Web of Science (ENDNOTE) e foi realizada em 02 de Agosto de 2022. Um total de 11 ensaios clínicos preencheram os critérios de qualidade. A revisão foi realizada por três revisores conforme as instruções do livro “Diretrizes Metodológicas-Elaboração de Revisão Sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados”, do Ministério da Saúde – 2021. Como resultados temos a indicação do uso do microRNA-122 como biomarcador que foi sugerida por diversos estudos, com resultados promissores, mas a complexidade da realização dos resultados e sua confiabilidade ainda não viabilizaram seu uso prático.

ABSTRACT

Gaia, Eduardo Nazaré da Costa. Systematic review on the evaluation of the functions of microRNAs (miRNAs) as a biomarker in the blood and liver of patients with hepatitis C. 2023. 50 pages. Master's Thesis - Federal University of the State of Rio de Janeiro, 2023.

Until 2015, the success rate of the best resources for hepatitis C treatment was below 50% and with several unwanted side effects. In 2013/2014, several scientific studies pointed to the prominence of miRNAs in the evolution and treatment of liver diseases, concomitant with the successful launch of direct-action antiviral agents (DAAs) that raised cure rates to 95% of patients. In this context, the focus of this systematic review is to highlight the scientific literary production on microRNA-122 as a biomarker to evaluate their functions in the blood and liver of patients, both in the evolution and treatment of Hepatitis C. The method used was through a Systematic Review (SR). The pico clinical question was: "What are the functions of miRNAs, circulating in the blood and liver, regarding the evolution of the disease and the treatment of patients with chronic hepatitis C?" The bibliographic search of clinical trials published between 2000 and 2022 considered the Pubmed, Cochrane, VHL, EMBASE and Web of Science (ENDNOTE) databases and was carried out on August 2, 2022. A total of 11 clinical trials met the quality criteria. The review was carried out by three reviewers according to the instructions of the book "Methodological Guidelines-Preparation of Systematic Review and meta-analysis of randomized clinical trials", from the Brazilian Ministry of Health - 2021. The indication of the use of microRNA-122 as biomarkers has been suggested by several studies, with promising results, but the complexity of the achievement of the results and their reliability have not yet enabled its practical use.

LISTAGEM DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CHC	Carcinoma hepatocelular
CP	Classificação Child-Pugh
DAA	Agentes antivirais de ação direta
HCC	Hepatite C crônica
HCV	Virus da hepatite C
HCV-RNA	Àcido ribonucleico do vírus da hepatite c
IFN	Interferon
INR	Razão normalizada internacional
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
miRNA	microRNA
N	Número de pacientes envolvidos
NK	Natural Killer
NS5A	Proteína não estrutural 5A
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação da cadeia da polimerase
qPCR	Reação da cadeia da polimerase quantitativa
pri-miRNA	Transcrito longo primário
RBV	Ribavirina
RdRP	Polimerase dependente de RNA
RISC	Silenciamento induzido por RNA
RNA	Àcido ribonucleico
RS	Revisão Sistemática
RVS	Resposta virológica sustentada
SUS	Sistema Único de Saúde
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

LISTAGEM DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 = Estrutura do vírus da hepatite C.....	5
Figura 2 = Esquema das proteínas do vírus da hepatite C.....	5
Figura 3 = Partícula lipoviral do vírus da hepatite C.....	8
Figura 4 = Fluxograma Prisma (2020) de Identificação e Seleção dos artigos para a Revisão Sistemática.....	28
Tabela 1 = Subtipos do vírus da hepatite C.....	7
Tabela 2 = Classificação Child-Pugh.....	11
Tabela 3 = Artigos 1 e 2	33
Tabela 4 = Artigos 3 e 4	34
Tabela 5 = Artigos 5 e 6	35
Tabela 6 = Artigos 7 e 8	36
Tabela 7 = Artigos 9 e 10	37
Tabela 8 = Artigo 11.....	38
Tabela 9 = Tabela de risco de viés da RS.....	40

Sumário

1	INTRODUÇÃO	3
1.1	– Esclarecimentos iniciais	3
1.2	– O vírus da Hepatite C/ Infecção	4
1.3	– Genomas variantes	6
1.4	– Relação entre a Hepatite C e o metabolismo lipídico	7
1.5	– Epidemiologia	9
1.6	– Transmissão	9
1.7	– Diagnóstico	9
1.8	– Patogênese	10
1.9	– Os microRNAs	11
1.10	– Biogênese dos miRNAs	13
1.11	– O miRNA-122	13
1.12	– Problemas nos protocolos de preparação de perfis de expressão de miRNAs	15
1.13	– Agentes antivirais de ação direta (DAAs)	16
2	JUSTIFICATIVA	18
3	OBJETIVOS	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	– Protocolo e Registro da Revisão Sistemática	21
4.1.1	– Critérios de Elegibilidade dos Estudos	21
4.1.2	– Bases de Dados Utilizadas	22

4.1.3 - Estratégia de Busca	22
4.1.4 – Relato da Revisão Sistemática.....	24
4.1.5 – Seleção dos Estudos.....	24
4.1.6 – Extração de Dados	25
4.1.7 – Avaliação do Risco de Viés	25
5 RESULTADOS	27
5.1 – Fluxograma PRISMA.....	28
5.2 – Listagem dos artigos selecionados por base de dados	29
5.3 – Características dos artigos incluídos (extração dos dados)	32
5.4 – Avaliação do risco de viés	40
6 DISCUSSÃO	42
7 CONFLITOS DE INTERESSE.....	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXO A – Check List Joanna Briggs para estudos observacionais transversos	49
ANEXO B – Check list Joanna Briggs para estudos caso-controle	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 – Esclarecimentos iniciais

A resposta virológica sustentada (RVS) é conseguida quando o ácido ribonucleico do vírus da hepatite c (HCV-RNA) permanecer indetectável por mais de 12 semanas após o término do tratamento com fármacos (RVS12), para os tratamentos propostos para a hepatite C. Antes do ano de 2002, com o emprego do interferon mais ribavirina (IFN+RBV) o percentual de sucesso era menor que 25%, depois, entre 2002 e 2015, ainda ficava abaixo de 50%, quando as terapias indicavam o uso do interferon α ou o interferon peguilado e a Ribavirina, além das preocupações com a segurança no tratamento e a qualidade de vida do paciente devido a frequentes reações adversas (Cursino et al., 2020).

Características dos pacientes, tais como, gênero, raça, idade; carga viral /genótipo/ heterogeneidade viral, poliformismo do gene IL-28B e grau de fibrose indicavam o percentual de sucesso do tratamento e suporte/validação de investimentos dos tratamentos da época (Martins, 2014).

Todas essas circunstâncias estimularam as pesquisas científicas, em biologia molecular, para tentar identificar marcadores que pudessem melhorar baixos índices de cura da hepatite C, desta forma nos anos de 2013/2014 surgiram os trabalhos que apontavam para a importância dos microRNAs (miRNAs), em especial o miRNA-122, que desempenha papel essencial na evolução das doenças hepáticas (Zhu, 2018) concomitante ao desenvolvimento dos novos medicamentos, inicialmente com inibidores de protease do vírus da hepatite c (HCV), complementados mais a frente no tempo, com os inibidores dos complexos de replicação e polimerases do HCV (Brandão, 2021).

Em 2013, um ensaio clínico com pacientes aleatoriamente designados para receber injeções subcutâneas do fármaco Miravirsen® ou placebo demonstrou que a

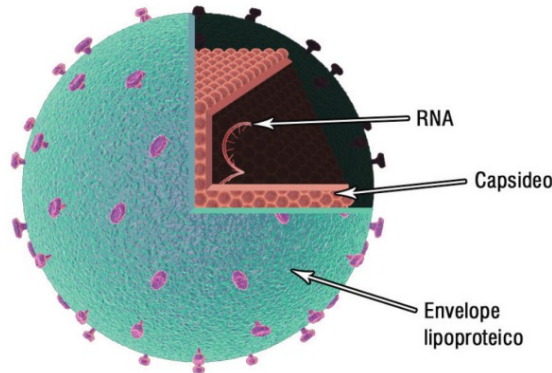
estabilidade do HCV é dependente das interações do genoma viral com o miRNA-122 produzido no fígado (Janssen et al., 2013).

A partir de 2015, houve o advento dos novos agentes antivirais de ação direta (DAA), no tratamento da hepatite C, que trouxeram as taxas de cura para 95% dos pacientes, acompanhados de sucessivas melhorias e de novos fármacos aliados a evolução das tecnologias para a identificação das doenças metabólicas e neoplásicas primárias do fígado, junto com melhores resultados no manejo da cirrose e novas técnicas cirúrgicas do transplante hepático (Brandão, 2021).

A visão da OMS (Organização Mundial da Saúde) é de que se possa alcançar a eliminação das hepatites virais até o ano de 2030, com a redução da ordem de 90% de novas infecções, 65% de redução das mortes relacionadas ao HCV (5), ambas aliadas ao aumento da testagem e tratamento em taxas superiores ao nível de 80% (Brandão, 2021).

1.2 – O vírus da Hepatite C/ Infecção

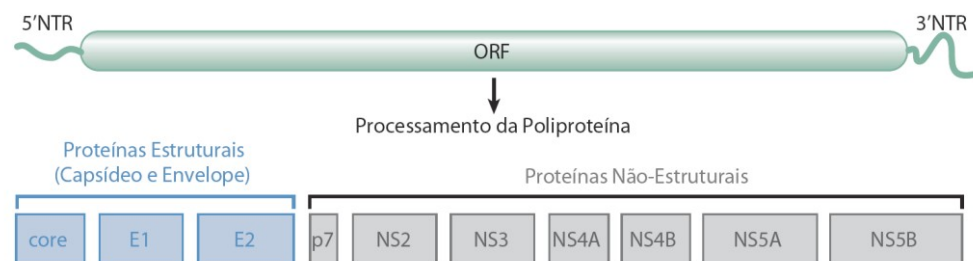
O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus RNA, de fita simples, de sentido positivo, envelopado da família *Flaviviridae*, gênero *Hepacivirus*, hepatotrófico. Especula-se que a infecção em humanos tenha sido transmitida por artrópodes para mamíferos insetívoros através da contaminação sanguínea ou da ingestão de insetos (Martinez et al., 2020). A África Subsaariana apresenta extensa heterogeneidade do HCV, sugerindo que ele seja endêmico nessa área antes da disseminação global nos últimos 100 anos (Martinez et al., 2020). O diâmetro viral mede aproximadamente 65 nm (40~70 nm), sua estrutura é composta por um envelope lipoproteico, de forma de um polígono de 20 lados, com duas glicoproteínas de superfície E1 e E2 que participam de um complexo processo de entrada nos hepatócitos (este vírus infecta exclusivamente o fígado) e pelo genoma/RNA viral que é protegido por um capsídeo conforme figura abaixo (Bertolini et al., 2018; Dash et al., 2020):



Fonte: BRASIL, 2014.

Figura 1 = Estrutura do vírus da hepatite C

O genoma viral é uma molécula de RNA, traduzida na sequência 5'-3', e que possui 9.600 bases. Conforme figura 2r, a organização genômica é dividida em dois segmentos principais, o de codificação de proteínas estruturais, core, E1 e E2 e das proteínas não estruturais, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A e NS5B. Estas últimas são expressas nas células infectadas, mas não fazem parte do vírus e acabam sendo os alvos principais dos agentes antivirais de ação direta DAAs de sucesso para o alcance da RVS atualmente (Bertolini et al., 2018):



Fonte: Adaptado de RICE, 2011.

Nota: O esquema mostra as proteínas estruturais e não estruturais do vírus após o processamento.

Figura 2 = Esquema das proteínas do vírus da hepatite C

A proteína NS5B é uma RNA polimerase dependente de RNA (RdRP), que sintetiza e copia o RNA viral para a produção de novos genomas virais que irão compor as novas partículas virais e ela não possui atividade de revisão, o que gera uma alta taxa de erro durante a replicação viral promovendo ampla diversidade genética do HCV (Martinez et al., 2020).

1.3 – Genomas variantes

O termo “*quasispécie*” viral nomina uma estrutura populacional que inclui um número grande de genomas variantes, que é o caso do HCV e essa complexidade mutante pode explicar seu comportamento adaptativo, transmissão do vírus, tropismo, disseminação, patogênese e o controle do hospedeiro (Martinez et al., 2020).

Os genótipos do HCV foram nomeados de 1 a 8 e ainda divididos em 105 subtipos por letras (1a, 1b, 2a, 2b etc) com diferentes epidemiologias e respostas ao tratamento (Martinez et al., 2020).

As distribuições dos diferentes genótipos e subtipos variam de acordo com a área geográfica (Blach et al., 2017).

Área geográfica	Genótipo prevalente/ Subtipo
Mundo todo	1
Brasil	1b
EUA/Canada	1a
Europa	1b
Oeste África	2
Sudoeste Ásia	3
Oriente Médio/Egito/África central	4
Sul da África	5
Ásia como um todo	6
República Democrática do Congo	7
Punjab (Índia)	8

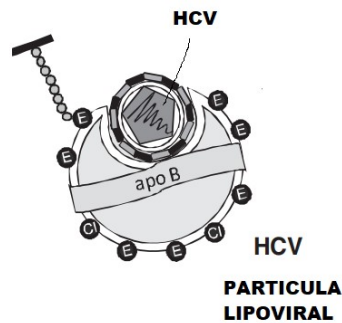
Obs: No Brasil encontramos também em grandes percentuais os subtipos 1^a (>80%) e 3. Esses subtipos são referidos no protocolo de tratamento da hepatite C prescrito pela Conitec/Ministério da Saúde 2018 (CONITEC, 2018).

Tabela 1 = Subtipos do vírus da hepatite C

1.4 – Relação entre a Hepatite C e o metabolismo lipídico

Todas as etapas de infecção do HCV, entrada nas células hepáticas, replicação e produção de vírions, possuem interação com o metabolismo das lipoproteínas.

Como exemplo, as partículas virais circulam fisicamente associadas com lipoproteínas como a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) (vide figura 3), que contém a apolipoproteína B-100 e as intercambiáveis apolipoproteínas E e CII, formando as possíveis partículas lipovirais (Bartenschlager, 2013).



Fonte: Detalhe modificado de (9), 2013.

Figura 3 = Partícula lipoviral do vírus da hepatite C

O HCV tem relação parasitária sobre as células infectadas e modula a seu favor nelas a produção de energia, macromoléculas e a organização estrutural necessária para a sua propagação. O ciclo de vida desse vírus gera anormalidades no metabolismo lipídico, sendo a biossíntese de colesterol, ácidos graxos e espécies de esfingolípídeos a chave para a replicação, a montagem, a secreção e a infectividade do HCV (Diamond et al., 2010).

Esta partícula lipoviral torna-se reconhecida ao mostrar uma semelhança com a porção VLDL/LDL que pode contribuir para as estratégias de evasão imune viral, como a de mascarar epítomos virais ou escapar de anticorpos neutralizantes anti-HCV direcionados contra proteínas virais (Grassi et al., 2016).

1.5 – Epidemiologia

No Brasil, dentre as hepatites virais a maior causa dos óbitos entre 2000 e 2019 foi a decorrente da hepatite C com 76,2% do total das hepatites e por esta tivemos o total de 59.950 óbitos. Foram notificados 262.815 casos de hepatite C entre 1999 e 2020. A partir de 2015 a incidência da Hepatite C superou as outras hepatites (Miranda et al., 2021). Estima-se que 58 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectados cronicamente pelo HCV (OMS, 2022). A epidemiologia da infecção pelo HCV, quanto à provável forma de infecção, dos casos notificados, foi publicada com os seguintes números percentuais do total de casos: aquisição desconhecida (56,9%), uso de drogas ilícitas injetáveis (11,9%), transfusão sanguínea (10%) e pela via sexual (9,6%), completada por outras causas (Miranda et al., 2021).

1.6 – Transmissão

A transmissão é predominantemente pela via parenteral/percutânea, com baixo risco de transmissão heterossexual e vertical. A hepatite C crônica (HCC) é doença insidiosa/silenciosa, com inflamação hepática contínua que promove a fibrose/cirrose em até 20% dos infectados em até 30 anos. A ocorrência da cirrose torna imprevisível a progressão da doença e pode evoluir para o carcinoma hepatocelular e morte (Martinez et al., 2020).

1.7 – Diagnóstico

O diagnóstico da infecção do HCV é feito pela detecção de anticorpos anti-HCV no soro e pela biologia molecular, pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) para a pesquisa do HCV-RNA, que possui uma alternativa pelo teste de antígeno de HCV introduzido mais recentemente (Hanif et al., 2022).

1.8 – Patogênese

A cirrose hepática é prevalente em todo o mundo e pode ser consequência, dentre outras causas da doença hepática gordurosa não alcoólica, alcoólica, infecção pelo vírus da hepatite B ou C, doenças autoimunes, colestáticas e sobrecarga de ferro ou cobre. Ela se desenvolve após um longo período de inflamação que causa a progressiva substituição do tecido hepático saudável por tecido fibrótico e nódulos regenerativos, levando à cirrose e hipertensão portal. A cirrose hepática é uma adaptação patológica ao estresse celular, causando alterações estruturais e funcionais no parênquima hepático para escapar das lesões. A doença é dividida em duas etapas: cirrose compensada e descompensada, cujas complicações podem levar à insuficiência hepática e até à morte. O manejo da cirrose pode incluir, entre outros tratamentos, o transplante hepático. A meta do tratamento da hepatite C inclui a identificação precoce, reversão dos fatores causais e prevenção das complicações (Ginès et al., 2021; Dash et al., 2020).

O sistema de estadiamento histológico da fibrose hepática mais utilizado é a classificação de Metavir, que é usada para avaliar a gravidade da fibrose hepática. Existem 4 estágios: fígado normal sem fibrose (F0), fibrose leve (F1), fibrose moderada (F2), fibrose em pontes (F3) e cirrose (F4) (Foucher et al., 2006).

O escore Child-Pugh (CP) (vide tabela 2) tem sido usado para avaliação do prognóstico clínico da cirrose hepática. Sua versão primária incluiu ascite, encefalopatia hepática, estado nutricional, bilirrubina total e albumina, posteriormente foi adicionado o tempo de protrombina ou razão normalizada internacional (INR) e removendo o estado nutricional (Peng et al., 2016). O escore de Child-Pugh é calculado somando-se os pontos dos seguintes fatores variando entre 5 e 15. As classes CP A (escore de 5 a 6), B (7 a 9) ou C (acima de 10). A descompensação indica cirrose com escore de CP > 7 (classe B de CP), sendo este

critério suficiente para a entrada no cadastro de transplante hepático (CONITEC, 2018).

Cirrose – Fator de classificação de Child-Pugh	1 ponto	2 pontos	3 pontos
Bilirrubina sérica $\mu\text{mol/l}$ (mg/dl)	< 34 (<2,0)	34-51 (2,0-3,0)	> 51 (> 3,0)
Albumina sérica, g/l (g/dl)	> 35 (> 3,5)	30-35 (3,0-3,5)	< 30 (< 3,0)
Ascite	Nenhuma	Facilmente controlada	Mal controlada
Distúrbio neurológico	Nenhum	Mínimo	Coma avançado
Tempo de protrombina (Segundos de prolongamento) INR	0-4 <1,7	4-6 1,7 – 2,3	>6 >2,3

Fonte: (Child and Turcotte 1964); (Cholongitas, et al., 2005)

Tabela 2 = Classificação Child-Pugh

O HCV promove uma inflamação hepática (de longa duração) que pode causar o aparecimento de fibrose, cirrose e o carcinoma hepatocelular (CHC). Cerca de 15% dos pacientes que desenvolvem o CHC não apresentam cirrose indicando que o HCV pode induzir o CHC diretamente (Dash, 2020). A adaptação patológica ao estresse induzido pelo HCV resulta na programação oncogênica celular implicada no desenvolvimento do CHC. Os tratamentos de erradicação do HCV, seja pelo emprego do interferon (IFN) ou pelas modernas combinações de antivirais de ação direta (DAAs), diminuíram, mas não eliminaram o risco de desenvolvimento do CHC. Muitas vias oncogênicas induzidas pela replicação do HCV produzem a programação epigenética que cria a célula tronco de câncer que leva ao CHC (Dash et al., 2020).

1.9 – Os microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs não codificantes de 21-22 nucleotídeos (nt), eles funcionam como reguladores de processos biológicos essenciais, como crescimento e diferenciação celular, tempo de desenvolvimento, apoptose e modulação da resposta do hospedeiro à infecção viral, em animais e plantas. Em animais, os miRNAs ligam-se imperfeitamente aos seus RNAs mensageiros alvo (mRNA) e o processo é dominado pelos primeiros oito nt da extremidade 5' do mRNA, que é chamada de região semente (Cheng et al., 2019) (Janssen et al., 2013). Eles foram descobertos em 1993 por Lee e colaboradores (Bhaskaran et al., 2014).

O miRNA funciona na regulação pós-transcricional da expressão do gene alvo. Um miRNA pode atingir simultaneamente vários genes localizados na mesma via de sinalização celular, com a capacidade de interagir com vários genes-alvos. Além disso, os miRNAs demonstram influenciar muitos processos biológicos importantes, como crescimento celular, diferenciação de tecidos, proliferação celular, desenvolvimento embrionário e apoptose e quando desregulados podem desempenhar papéis críticos na progressão de diversas doenças como envelhecimento e câncer. Em animais os miRNAs podem ser empacotados em exossomos ou microvesículas e secretados no ambiente extra-celular podendo realizar comunicação célula-célula a longa distância. Esses miRNAs circulantes podem atuar como potenciais biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico de vários tipos de câncer, bem como outras doenças e síndrome conhecidas (Cheng, 2019), por exemplo como o miRNA122, que pode ser mensurado no soro ou em biópsia de fígado de pacientes, pela reação da cadeia da cadeia de polimerase quantitativa (qPCR) e indicar o nível de replicação do HCV, por associação direta (Revista de Hepatologia, 2015).

Podemos conceituar a função dos miRNAs como uma conversa entre muitos participantes com efeitos mais amplos do que liga/desliga e de uma forma prolongada. Muitos participantes desta conversa podem influenciar a própria expressão de um miRNA, no nível de transcrição, processamento e função, codificador de proteína ou não, incluindo efeitos epigenéticos em mRNAs. Essa

conversa não se limita à célula onde se iniciou, podendo ser célula-célula e outros ao seu redor. A idéia é controlar estes miRNAs e desviar a conversa da doença para a saúde do paciente (Mott et al., 2015).

1.10 – Biogênese dos miRNAs

Cerca de metade de todos os miRNAs têm origem intragênica e são processados a partir de íntrons e poucos éxons de genes codificadores de proteínas; o restante é intergênico, transcrito independentemente de um gene hospedeiro e regulado por seus próprios promotores. A biogênese do miRNA é classificada nas vias canônicas e não canônicas (O'Brien et al., 2018).

Na via canônica tudo começa, no núcleo celular, com a transcrição de um transcrito longo primário (o pri-miRNA), sendo processado pelas enzimas Drosha e DCGR8 e convertido em um transcrito menor (o pré-miRNA). Na via não canônica, a gênese dos miRNA não canônicos (denominados mirtrons) são transcritos a partir do íntron do mRNA durante o “splicing”, sendo que o pré-miRNA é produzido de forma independente das enzimas Drosha e DCGR8, mas requerem a ação de “spliceossomos” e enzimas desramificadoras no núcleo. A conformação final dos miRNA nas duas vias é semelhante (Divisato et al., 2021) e os pré-miRNA são transportados para o citosol e processados pela enzima Dicer que cliva a alça terminal deixando um duplex de miRNA que se une à proteína Argonaute para formar o complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). O miRNA funcional e pronto guia o RISC para os mRNA alvo por meio de ligação complementar, o que leva a interrupção da tradução ou promoção (Rorbach et al., 2018).

1.11 – O miRNA-122

O fígado é o maior órgão interno do corpo humano, que possui auto-regeneração e exerce diversas funções vitais através de processos bioquímicos conduzidos e controlados. Neste contexto, tudo sugere a participação essencial das redes de miRNAs, cujas alterações podem estar associadas à doenças como hepatite, esteatose, cirrose e carcinoma hepatocelular (Revista de Hepatologia, 2015).

O miRNA-122 é expresso no fígado e compõe 70% do total de miRNAs hepático.

O miRNA-122 se liga à região 5'-UTR (região semente de leitura) e estabiliza o genoma do RNA do HCV e, assim, como agonista, estimula a replicação vírus. A inibição do miRNA-122, desse modo, reduz a expressão de RNA do HCV, sendo assim torna-se potencial alvo terapêutico. Níveis baixos de miRNA-122 no início da infecção pode facilitar a entrada do HCV nos hepatócitos. Tanto os inibidores como o miméticos do miRNA-122 têm vantagens e desvantagens na infecção do HCV que dependem de avaliação mais cuidadosa (Zhu et al., 2013).

O miRNA-122 é fator chave no desenvolvimento, diferenciação, homeostase e funções metabólicas do fígado. Isto sugere que pode estar envolvido com a determinação e manutenção da identidade dos tecidos deste órgão (Revista de Hepatologia, 2015). A redução deste foi associada a doenças hepáticas e ao carcinoma hepatocelular, uma vez que favorece a replicação do HCV. Estudos sugerem uma ligação entre a expressão gênica deste e o metabolismo lipídico hepático. Esta situação sugere uma modulação ideal para a saúde do paciente, com a redução da expressão do miRNA-122 para a inibição da replicação do HCV e do colesterol plasmático e o aumento dele para a redução da fibrose e do carcinoma hepatocelular (Revista de Hepatologia, 2015).

O medicamento Miravirsen® (Roche), é um oligonucleotídeo antisense modificado por ácido nucleico bloqueado, composto de 15 nucleotídeos complementar e com alta afinidade e especificidade para a região 5' do miRNA-122 maduro. Este fármaco pode inibir o miRNA-122, mas teve seus estudos de

desenvolvimento (fase II) com algum sucesso, interrompidos em Setembro de 2021 (Janssen et al., 2013; Miravirsen®, 2022).

O RG-101 é um oligonucleotídeo conjugado com N-acetilgalactosamina direcionado a hepatócitos e que antagoniza o miRNA-122, em pacientes com hepatite C crônica com vários genótipos, ainda publicado em estudos de 2022 (Rachad et al., 2018).

É provável que os inibidores de miRNA-122, com administração parenteral, não venham a desempenhar papel importante nas futuras terapias específicas antiviral contra o HCV devido ao sucesso da aprovação dos antivirais de ação direta (DAAs), via oral, com atividade pangênica e elevadas taxas de respostas virológicas sustentadas (RVS) (Revista de Hepatologia, 2015).

1.12 – Problemas nos protocolos de preparação de perfis de expressão de miRNAs

- Uma etapa crítica na preparação de pequenas bibliotecas de RNA para sequenciamento é a ligação de nucleotídeos adaptadores às extremidades 5' e 3' de pequenos RNAs. Isto gera um viés significativo, pois os dois protocolos de preparação da biblioteca “*Illumina*” produzem perfis de expressão de miRNA diferentes no mesmo lote de células, da ordem de >5 vezes, com alguns miRNAs específicos chegando a diferença da ordem de 30 vezes. Esse problema deve ser levado em consideração para cada projeto na escolha da adoção do protocolo mais apropriado (Baran-Gale et al., 2015).

Um estudo de maio de 2021 concluiu que apesar do aperfeiçoamento significativo da metodologia, não há um método ideal para isolar os miRNAs e o trabalho no desenvolvimento e otimização de novas abordagens para esse problema deve ser continuado para promover impulso significativo aos estudos de célula livre-miRNA e, potencialmente, ver algumas de suas aplicações de diagnóstico aparecerem no cenário clínico (Zhou et al., 2021).

1.13 – Agentes antivirais de ação direta (DAAs)

A história dos fármacos utilizados no tratamento da hepatite C, entre 1990 a 2015, incluía, inicialmente, o interferon alfa e, mais à frente, o interferon peguilado associado à ribavirina. No final dos anos 2013/2014 surgiram os primeiros inibidores de protease do HCV (Brandão, 2021).

Em 2011, os primeiros dois agentes antivirais de ação direta (DAAs), o boceprevir e o telaprevir, em combinação com a terapia tradicional, peginterferon/ribavirina foram apresentados, mas apresentavam custo elevado, maiores interações e maior toxicidade, com possível descompensação e óbito (González-Grande et al., 2016).

Em 2015, devido aos resultados insatisfatórios do Boceprevir /Telaprevir foram lançados 3 novos DAAs, sendo que o Ministério da Saúde incorporou 3 novos medicamentos: Sofosbuvir, Datasclavir e o Simeprevir (Cursino et al., 2019).

O Sofosbuvir é inibidor da região da polímerase NS5B do HCV, com eficácia contra os genótipos 1, 2 ou 3, inclusive na coinfeção com o HIV e que deve ser usado em combinação com outro DAA (Bula do Sofosbuvir). A dose é de 400mg (um comprimido) ao dia, ele sofre metabolismo celular para formar seu metabólito ativo (González-Grande et al., 2016). Este fármaco foi um grande avanço no advento dos DAAs totalmente orais, mas e principalmente pela possibilidade poder de tratar HCV em pacientes cirróticos (Hanif et al., 2022).

O Datasclavir é inibidor não estrutural da proteína NS5A do complexo de replicação viral. A dose é de 60 mg (dois comprimidos) por dia e ele é pangénotípico (González-Grande et al., 2016).

O Simeprevir é inibidor indicado para o genótipo 1 da protease NS3/4A, que interfere no ciclo de vida do HCV. A dose é 150 mg (uma cápsula) por dia (González-Grande et al., 2016).

Tanto o Datasclavir como o Simeprevir foram descontinuados da rede pública brasileira em 2018 do arsenal terapêutico do Sistema Único de Saúde (SUS) (Cursino et al., 2022).

Em 2017, foram incluídos novos medicamentos, o Ombitasvir, Veruprevir e Dasabuvir, que compunham o Viekira®, ampliando a cobertura para os genótipos 1, 5 e 6 (González-Grande, 2016). O uso individual de cada medicamento não é aprovado (González-Grande, 2016).

Em 2018, novas associações foram aprovadas com os medicamentos, Sofosbuvir/Ledipasvir, Elbasvir+Grazoprevir, Glecaprevir/Pibrentasvir e Sofosbuvir/Velpatasvir, sendo que estes medicamentos são indicados para todos os perfis de pacientes, como crianças, portadores de doença renal crônica e aqueles tratados previamente com algum DAA (Viekira pak, 2022).

Ledipasvir é inibidor da proteína não estrutural 5A (NS5A) do HCV (Pubchem, 2022).

Glecaprevir é agente antiviral de ação direta e inibidor da protease NS3/4A do HCV (38). Pibrentasvir é inibidor NS5A do HCV (Pubchem, 2022).

Velpatasvir é inibidor do complexo de replicação da proteína não estrutural 5A (NS5A) do HCV (Pubchem, 2022).

Aproximadamente 30 anos se passaram desde a descoberta do HCV em 1989 e agora é possível se alcançar taxas de resposta virológica sustentada de mais de 95% em pacientes com hepatite crônica e cirrose compensada com medicamentos orais (43). Entretanto, apesar do advento e aprovação de agentes orais altamente eficazes e bem toleráveis, ainda permanecem muitos desafios, particularmente a acessibilidade, a distribuição equitativa e o acesso a medicamentos posteriores (Hanif et al., 2022).

2 JUSTIFICATIVA

As terapias usadas no tratamento da hepatite C crônica até 2015 possuíam baixo índice de cura, da ordem de 50%. Entre as drogas mais importantes utilizadas destacavam-se o interferon α ou pegilado e a ribavirina, que até hoje, esta última, ocupa ainda uma posição coadjuvante nos tratamentos. A grande evolução e reviravolta nos fármacos foram os agentes antivirais de ação direta, os conhecidos DAAs, que ampliaram o percentual de cura, também chamada de RVS, para o novo patamar de 95% (Cursino et al., 2022).

Entre os anos, de 2000 e 2020, os miRNAs foram considerados como potenciais biomarcadores da evolução da doença hepática e com o potencial de emprego terapêutico (Zhu et al., 2018).

Até a metade da última década tudo apontava para que o conhecimento dos miRNAs e dos novos recursos biomoleculares pudessem estar associados como uma possível chave para otimizar o baixo percentual de cura da hepatite C crônica. Muitos investimentos foram estimulados em diversos centros de pesquisa por todo o planeta com resultados animadores dos possíveis usos dos miRNAs como biomarcadores, como o miRNA-122, específico do fígado, que ao ser inibido, pode promover a resistência às drogas, aumentando a expressão de oncogenes no carcinoma hepatocelular, facilitando a metastase e elevando a expressão de moléculas alvo que regulam a transição epitélio-mesênquima, porém um maior acúmulo de dados e ensaios clínicos são necessários para a implementação de aplicações clínicas hoje em 2022 (Morishita et al., 2022).

Até o momento, existe uma lacuna de conhecimento a ser preenchida. Todas as informações disponíveis para o uso dos miRNAs como biomarcadores na

progressão da evolução da doença e no tratamento da hepatite crônica não se consolidaram.

3 OBJETIVOS

Realizar uma revisão sistemática sobre a função do miRNA-122 na progressão da hepatite c e seu uso como biomarcador.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 – Protocolo e Registro da Revisão Sistemática

Este estudo é uma revisão sistemática (RS), também conhecida como síntese de pesquisas, elaborada de acordo com as “Diretrizes Metodológicas – Elaboração de Revisão Sistemática e Meta-Análise de Ensaio Clínicos Randomizados” do Ministério da Saúde, 2021, 93p..

O registro desta RS foi feito no International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) ([https:// www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/](https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/)) com o registro = PROSPERO acknowledgement of receipt [350452].

Em se tratando de uma RS, onde apenas dados de domínio público foram utilizados sem a identificação dos participantes nos estudos selecionados, o presente manuscrito não foi submetido para a apreciação por parte do sistema CEP/CONEP.

4.1.1 – Critérios de Elegibilidade dos Estudos

Os elementos PICO utilizados para esta RS foram os seguintes:

P – População = pacientes com hepatite C crônica.

I – Intervenção = Leitura qualitativa/quantitativa dos miRNAs no soro ou biópsia de pacientes antes e depois de tratamentos da doença

C – Comparador = Grupo de pacientes ou substância de controle

O – Desfecho = Diferentes miRNAs são identificados/quantificados

Foram selecionados ensaios clínicos (“*Clinical trials*”) avaliando intervenções como a detecção de miRNAs nos soro coletado ou biópsia hepática de pacientes com hepatite C crônica. Ensaios clínicos em outros órgãos ou pacientes descompensados não foram considerados.

Os desfechos considerados nos ensaios foram os valores qualitativos obtidos através da avaliação biomolecular do tipo específico de miRNA envolvido e através dos quantitativos através da medição relativa à uma substância de controle.

4.1.2 - Bases de Dados Utilizadas

O período de tempo retrospectivo para a pesquisa foi a partir do ano 2000 até hoje, 2022, sendo que este critério levou em conta que o primeiro artigo de avaliação de miRNAs aparece datado de 2002.

As bases de dados utilizadas foram 4:

- PUBMED
- BVS
- EMBASE
- COCHRANE

A Base de dados WEB OF SCIENCE foi utilizada apenas como base da ferramenta ENDNOTE de identificação de artigos repetidos entre as 4 bases.

4.1.3 - Estratégia de Busca

A estratégia de busca contou com o apoio bibliotecário especialista do Instituto Biomédico da UNIRIO.

A estratégia e busca utilizou as seguintes palavras-chaves e/ou descritores relacionados por base de dados:

Pubmed:

((("Hepatitis C"[Title/Abstract] OR "Hepatitis viral C"[Title/Abstract] OR "HCV"[Title/Abstract] OR "hepacivirus"[Title/Abstract] OR ("Hepatitis C"[MeSH Terms] OR "hepacivirus"[MeSH Terms]) OR "hepatitis c/therapy"[MeSH Terms] OR "hepacivirus"[MeSH Terms]) AND ("miRNA*"[Title/Abstract] OR "micro rna*"[Title/Abstract] OR "miRNA*"[Title/Abstract] OR "small RNA"[Title/Abstract] OR "miR"[Title/Abstract] OR "miR122"[Title/Abstract] OR "miRNA-122"[Title/Abstract] OR "MiRNAs"[MeSH Terms] OR "miRNAs/therapeutic use"[MeSH Terms]) AND ("patient*"[Title/Abstract] OR "serum*"[Title/Abstract] OR "biops*"[Title/Abstract] OR "human*"[Title/Abstract] OR "serum"[MeSH Terms] OR "biopsy"[MeSH Terms] OR "humans"[MeSH Terms] OR "patients"[MeSH Terms])) AND ((clinicaltrial[Filter]) AND (2000:2022[pdat]))

Cochrane:

("Hepatitis C" OR "Hepatitis viral C" OR HCV OR "hepacivirus") AND ("miRNA*" OR "micro RNA*" OR "miRNA*" OR "small RNA" OR "miR" OR "miR122" OR "miRNA-122") AND (patient* OR serum* OR biops* OR human*)

BVS:

("Hepatite C" OR "Hepatite Viral C" OR "Hepatitis c" OR "Hepatitis viral C" OR hcv OR "Hepatite C/terapia" OR "Hepatitis C/therapy" OR "hepacivirus") OR (mh:(hepatite c)) OR (hepatitis c) OR (hepacivirus) AND (("Micro RNA" OR "Micro-RNA" OR miRNA* OR "miRNA" OR "Small RNA" OR mir OR "miR122" OR "miRNA-122" OR "MiRNAs/uso terapêutico" OR "MiRNAs/therapeutic use") OR (mh:(miRNAs))) AND ((paciente* OR patient* OR soro OR serum* OR biops* OR human*) OR (mh:(pacientes)) OR (mh:(patients)) OR (mh:(soro)) OR (mh:(serum)) OR (mh:(biópsia)) OR (mh:(biopsy)) OR (mh:(humanos)) OR (mh:(humans))) AND (type_of_study:(clinical_trials)) AND (year_cluster:[2000 TO 2022

Embase:

('hepatitis c':ti,ab,kw OR 'hepatitis viral c':ti,ab,kw OR hcv:ti,ab,kw OR 'hepacivirus':ti,ab,kw OR 'hepatitis c'/mj OR 'hepatitis c/therapy' OR 'hepacivirus'/mj) AND ('miRNA*':ti,ab,kw OR 'micro rna*':ti,ab,kw OR 'miRNA*':ti,ab,kw OR 'small rna':ti,ab,kw OR 'mir':ti,ab,kw OR 'mir122':ti,ab,kw OR 'miRNA-122':ti,ab,kw OR 'miRNA'/mj OR 'miRNAs/therapeutic use') AND (patient*:ti,ab,kw OR serum*:ti,ab,kw OR biops*:ti,ab,kw OR human*:ti,ab,kw OR 'serum'/mj OR 'biopsy'/mj OR 'human'/mj OR 'patient'/mj) AND 'clinical trial'/de AND [2000-2022]/py

Data da Pesquisa na internet: 02 08 2022.

4.1.4 – Relato da Revisão Sistemática

O relato da RS seguiu as recomendações do guia de redação *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) inclusive para composição do fluxograma do processo de seleção dos estudos.

4.1.5 – Seleção dos Estudos

A decisão de inclusão ou não dos estudos foi baseada nos critérios de elegibilidade. A primeira fase da seleção avaliou os títulos e resumos. Foram identificadas as populações, os critérios de exclusão e o delineamento do estudo. O processo de seleção foi realizado por dois revisores e as discordâncias foram avaliadas por um terceiro revisor.

As habilidades dos revisores foram de especialista em clínica/diagnóstico e tratamento em hepatite C e especialista em biologia molecular.

Sempre que o resumo se mostrou insuficiente para atendimento dos critérios de elegibilidade, o texto completo foi então avaliado para conclusão. A pesquisa buscou artigos escritos na língua inglesa, limitados a pesquisas com avaliações apenas em pacientes e com órgão alvo apenas o fígado. As divergências entre os revisores foram resolvidas por consenso.

Após a seleção dos artigos por base de dados, o passo seguinte empregou o uso da ferramenta ENDNOTE disponível na base de dados Web Of Science, para identificar os artigos repetidos entre as 4 bases de dados utilizados. O fluxograma PRISMA mostra esses resultados. A seguir, foram verificadas semelhanças entre os artigos das bases para descartar os iguais com títulos diferentes entre as bases.

4.1.6 – Extração de Dados

A coleta de dados dos artigos considerados foram guiadas por uma ficha clínica padrão, elaborada previamente, realizada por dois revisores de maneira independente. As discordâncias dos resultados foram resolvidas, por consenso entre os dois primeiros revisores ou por consulta ao terceiro revisor. As dúvidas técnicas consideraram a especialidade de cada revisor auxiliar.

A ficha clínica padrão para a extração de dados considerou a identificação do autor principal e sua equipe, o meio/jornal de publicação, o ano e a base de dados onde foi encontrado, o país do autor principal, o objetivo da pesquisa, os métodos utilizados, o intervalo de tempo, os principais desfechos observados e os resultados obtidos.

4.1.7 – Avaliação do Risco de Viés

O processo utilizado para a avaliação de viés dos estudos incluído foi o “Ferramentas de Avaliação Crítica”- Joanna Briggs, da JBI, Universidade de

Adelaide (Austrália). Foram utilizadas as listas específicas para cada tipo de estudo selecionados para esta RS.

Os tipos de estudos selecionados incluíram os caso-controle e observacionais transversais.

5 RESULTADOS

Conforme apresentadas as estratégias de busca, foram realizadas as seleções dos artigos, dia 02/08/2022, nas bases de dados Pubmed, BVS, Embase e Cochrane, primeiramente na forma automática seguindo a programação automática de cada base, quando foram listados e agrupados em 4 pastas. Em seguida, cada grupo de artigos compondo uma pasta por base de dados, foi exportada no formato “.RIS”, compatível à ferramenta ENDNOTE para o site Web of Science e neste foi aplicada esta ferramenta que excluiu 12 artigos repetidos entre as bases, de forma também automática. Depois, foram comparados por triagem manual os resumos dos artigos selecionados pelo ENDNOTE e foram confirmados 9 repetições de artigos publicados em revistas diferentes, porém como conteúdo igual. A seguir, foram excluídos manualmente, tanto 2 artigos com foco em outros órgãos diferentes do fígado, como 5 sobre animais (ou in vitro), mais 4 por serem artigos de revisão, mais 4 por possuírem um número de pacientes muito baixo e mais 10 por usarem o miRNA-122 como alvo de fármaco. Finalmente foram selecionados e confirmados 11 artigos eleitos que preencheram todos os critérios de inclusão por elegibilidade, conforme a figura 4, o fluxograma formato PRISMA (2020), a seguir:

5.1 – Fluxograma PRISMA

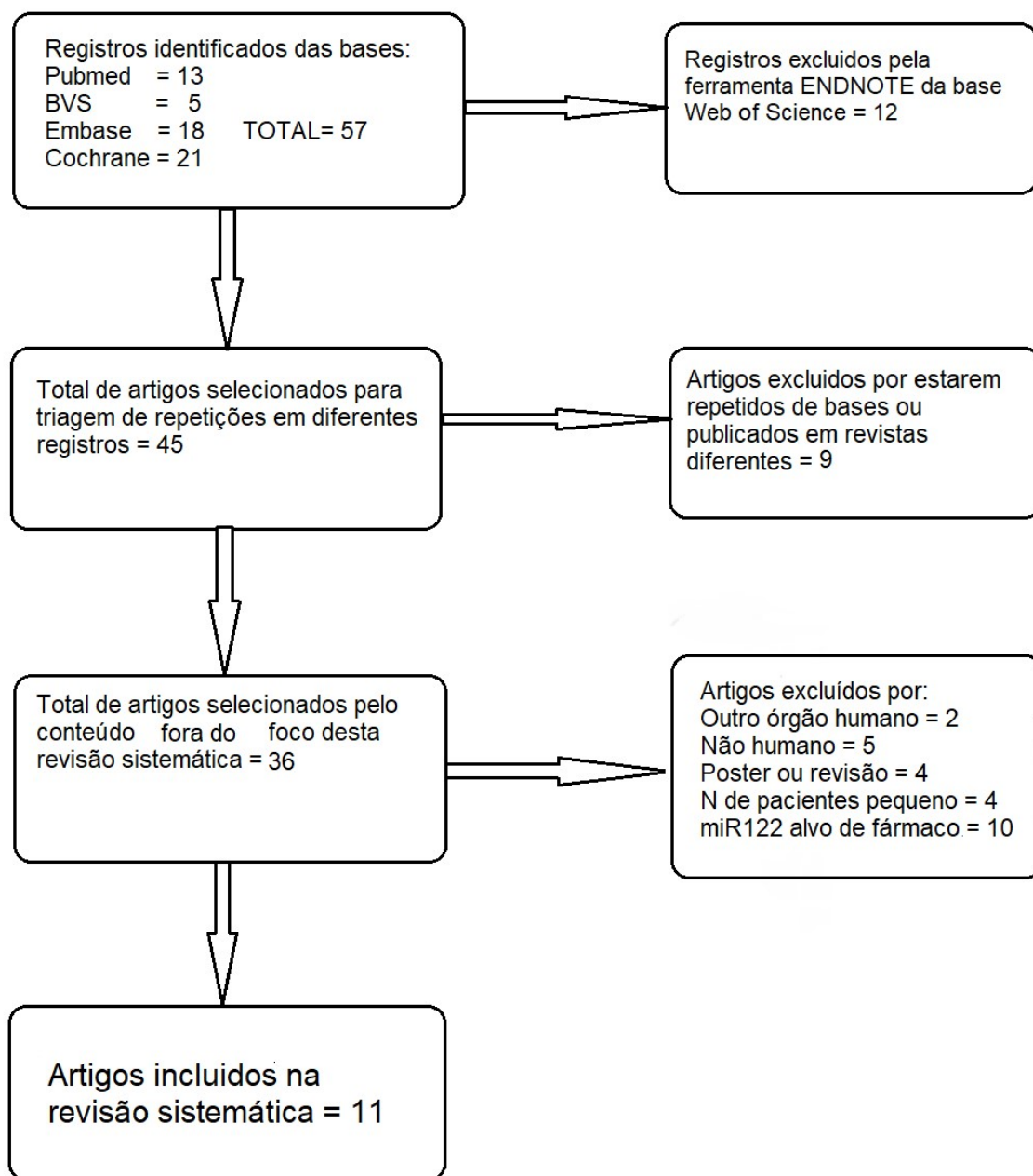















Figura 4 - Fluxograma Prisma (2020) de Identificação e Seleção dos artigos para a Revisão Sistemática.













As seleções dos artigos foram realizadas por dois avaliadores, de forma independente e todas as divergências foram resolvidas por consenso.

5.2 – Listagem dos artigos selecionados por base de dados






Pubmed

-  1. Decreased levels of microRNA miR-122 in individuals with hepatitis C responding poorly to interferon therapy
-  2. Acute Hepatitis C Virus Infection Induces Consistent Changes in Circulating MicroRNAs That Are Associated ...
-  3. MicroRNA-122 associates with serum apolipoprotein B but not liver fibrosis markers in CHC genotype 1 infection
-  5. Serum miR-122 may serve as a biomarker for response to direct acting antivirals -effect of paritaprevir
-  7. Achieving sustained virologic response after interferon-free
-  11. Serum miRNA-27a and miRNA-18b as potential
-  X. Excluído por ser In Vitro - Antiviral Activity and Preclinical and Clinical Resistance Profile of Miravirsen, a Novel ...
-  X. Excluído por ser outro órgão além do fígado - miR-122 promotes virus-induced lung disease by targeting SOCS
-  X. Excluído por não ser miR122 - MicroRNA-155 regulates interferon- γ production in natural killer cells via Tim-3 signalling in chronic hepatitis C ...
-  X. Excluído por ser fármaco - Immune phenotype and function of natural killer and T cells in chronic hepatitis C
-  X. Excluído por ser fármaco - Long-term safety and efficacy of microRNA-targeted therapy in chronic hepatitis C patients
-  X. Excluído por ser fármaco - Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients with chronic hepatitis C
-  X. Excluído por ser fármaco - Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA




















Embase

-  8. Role of MiRNAs in hepatitis C virus clearance...
-  9. SerummiRNA expression profile reveals a novel prognostic panel for HCV patients pag a41
-  X recusado N pequeno - Clinical pharmacokinetics of MicroRNA-122 Inhibitor RG-101 ...
-  X recusado por N muito baixo - Reinfection of Transplanted Livers in HCV...
-  X recusado por rser review - MANIPULATING MICRO-RNA FOR CANCER THERAPY...
-  X recusado por ser in vitro - Hepatitis C virus can evolve resistance to microRNA-122 inhibitors
-  X recusado por serem macacos - Durable expression of TT-034 in cynomolgus...
-  X recusado review - RNA interference and antiviral therapy
-  X recusado review - Interferon therapy of hepatitis C...
-  X. Excluido por ser fármaco - Circulating miRNA expression profiling and its pag A53
-  X. Excluido por ser fármaco - RG-101 in Combination with 4 Weeks of Oral Direct...
-  X. Excluir por ser fármaco - Prevalence of Pre-Existing HCV Resistance-Associ-ated Variants ...

BVS

-  10 . Circulating microRNAs as a biomarker to predict therapy efficacy in hepatitis C patients with different genotypes
-  X REPETIDO PUBMED - Acute Hepatitis C Virus Infection Induces Consistent Changes in Circulating MicroRNAs ...
-  X REPETIDO PUBMED - Long-term safety and efficacy of microRNA-targeted therapy in chronic hepatitis C patients
-  X REPETIDO PUBMED - Serum miR-122 may serve as a biomarker for response to direct acting antivirals -effect ...
-  X REPETIDO PUBMED - Treatment of HCV Infection by Targeting MicroRNA

Cochrane

-
-  4 . IFI35, mir-99a and HCV Genotype to Predict Sustained...
 -  X igual da Pubmed - Safety, tolerability, and antiviral effect of RG-101 in patients...
 -  X mesmo artigo da Embase - RG-101 in combination with 4 weeks of oral directacting antiviral...
 -  X recusado igual ao pubmed - Immune Phenotype and Function...
 -  X recusado igual da Embase Prevalence of pre-existing HCV resistance-associated variants and...
 -  X recusado pois estuda anestesia - MicroRNA differential profiling in hepatitis C patients ...
 -  X recusado por N pequeno - Miravirsen dosing in chronic hepatitis C patients results in ...
 -  X recusado por ser abstract de outro pubmed igual - T Cell Functionality in Chronic Hepatitis C...
 -  X recusado por ser não HCV - Potential application of serum miRNA signature for minimization...
 -  X recusado por ser não humano - Evolutionary selection of pestivirus variants with
 -  X recusado por ser pulmão miR-122 promotes virus-induced lung disease by targeting SOCS1
 -  X recusado por ser repetido - A single dose of RG-101, a GalNAc-Conjugated Oligonucleotide...
 -  X recusado por ser repetido - miR-122 levels in chronic hepatitis C patients achieving sustained...
 -  X recusado por ser repetido - Miravirsen dosing in chronic hepatitis c patients results in a ...
 -  X recusado repetido do pubmed .Achieving sustained virologic response after interferon-free...
 -  X repetido - Long-term safety and efficacy of microRNA...
 -  X repetido de repetido - A single subcutaneous dose of 2mg...
 -  X repetido pubmed - Treatment of HCV Infection by Targeting
 -  X. Excluido por ser Fármaco - Final results-randomized, double-blind, placebo-controlled safety, anti-viral proof-of-concept ...
 -  X. Excluido por ser fármaco - Sequence analysis for resistance monitoring following a single dose of RG-101, an anti-miR ...
 -  X. Excluido por ser Fármaco - Treatment with the Anti-miRNA122 Oligonucleotide RG-101 results in...

5.3 – Características dos artigos incluídos (extração dos dados)

A extração do conteúdo dos artigos incluiu as seguintes informações: Ítem, autor principal, Jornal de publicação, ano, base de dados, país, objetivo dos estudos, método, intervalo de tempo, desfechos observados e resultados, conforme as tabelas a seguir:

TABELA 3 - Artigos 1 e 2

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/ BASE	PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE TEMPO	DESFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS
1	Sarasin-F et al.	Nat Med. 2009 Pubmed	Suíça	Avaliar as correlações dos níveis de expressão do miR122 e a carga viral em pacientes com hepatite C crônica sob tratamento com interferon	Estudo clínico, prospectivo, centro único, código aberto, (N=48) Grupo Caso com hepatite C, genótipo 1 e 4 em tratamento (N=42) e Grupo controle (N=6)	12 semanas	Como miR122 é necessário para a replicação eficiente de HCV in vitro foi surpresa o achado de medições da carga viral no fígado e soro dos pacientes, que não mostraram correlação entre o volume de miR122 e a carga viral em pacientes não responsivos.	Não há correlação entre o nível de expressão do miR122 e a carga viral ao fim de terapia com interferon. Isto pode ter influência nas futuras terapias com foco no miR122 para tratamento da hepatite C crônica
2	El-Diwany et al.	Jornal da Virologia 2015 Pubmed	EUA	Estudar a abundância de miRNA plasmático durante "a infecção aguda" do HCV para identificar uma assinatura miRNA de infecção precoce.	Estudo tipo caso controle, prospectivo, multicêntrico, (N=53) grupo descoberta (Baltimore)(N=22), grupo validação (S. Franc.) (N=28), grupo controle negativo (N=3), todos participantes usuários de drogas injetáveis sem HBV ou HIV, com medições antes, durante e após resolução ou persistência.	96 dias	Durante a infecção aguda houve aumentos em miR122 e miR885-5p e redução miR494. Alterações nos dois foram mantidas na infecção persistente.	A infecção por HCV induziu a liberação extracelular de miR122 e miR885-5p apesar dos níveis intracelulares não perturbados. O miR494 acumulou intracelularmente. Esses resultados são inconsistentes com a liberação necrolítica de miRNAs de hepatócitos no plasma durante a infecção pelo HCV em humanos e implicam na seletividade celular na liberação de miRNAs

LEGENDA

HCV - vírus da hepatite C	N - Número de pacientes da pesquisa	miRXXX - microRNA(número)		
---------------------------	-------------------------------------	---------------------------	--	--

TABELA 4 - Artigos 3 e 4

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/	PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE	DESFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS
3	Lee et al.	Jornal de Virologia da Medicina 2015 Pubmed	EUA	Estudar as associações entre o miR122, apolipoproteína e biomarcadores, no soro, de fibrose em pacientes crônicos de hepatite C.	Estudo observacional transversal de variação de doses do Miravirsen, fase IIa, (N=36), todos pacientes referentes que completaram a fase IIa do miravirsen. Todos sem HBV e HIV, cirrose ou outra descompensação hepática. Genótipo do HCV 1.	amostra única de cada paciente	Os níveis médios de miR122 no soro foram maiores em pacientes com menores níveis de ApoB do que com altos níveis, mas não gerou significância estatística. Não houve variação significativa do miR122 entre os pacientes com diferentes METAVIR de fibrose.	Nesta pequena coorte foram achados baixos níveis de ApoB com altos níveis de miR122. Não houve associação significativa entre o miR122 e ApoA-1 e o colesterol total, que sugere complexa interação entre o HCV e a regulação lipídica. Não reconhece o miR122 como bom biomarcador.
4	Estrabaud et al.	PLOS ONE 2015 Cochrane	França	Identificar microRNAs associados à RVS e construir uma assinatura precisa para prever a RVS.	Estudo observacional transversal, centro único, (N=111) grupo tela (N=28), grupo validação (N=83), todos biópsias hepáticas+soro de 68 pacientes, todos com CHC, compensados sem outras infecções virais. Genótipos 1, 2, 3 e 4.	72 semanas	4 dos 20 miRNAs tiveram alteração nos 2 grupos, mas 3 foram aceitos: miR99a, miR181a e miR23a. O miR122 não mostrou diferenças. Para o genótipo 1 a expressão do IFI35 e miR99a foram preditores da RVS. Outros somente o IFI35.	Identificaram o IFI35, miR99a e o genótipo do HCV como preditores de RVS com alto valor preditivo, sensibilidade e especificidade. Não identificou o miR-122 como biomarcador.

LEGENDA

ApoXXX - Apolipoproteína(número/letra)	CHC - Carcinoma hepatocelular	HCV - vírus da hepatite C	IFI35 - proteína induzida por interferon 35
miRXXX- microRNA(número)	N - número de pacientes da pesquisa		RVS - Resposta virológica sustentada

TABELA 5 - Artigos 5 e 6

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/	PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE	DESFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS
5	Waring et al.	Jornal de Hepatites Virais 2016 Pubmed	EUA	Avaliar o perfil de miRNAs circulantes em soros de pacientes (Não cirróticos) quanto ao uso deles como biomarcadores da evolução da doença em terapias com DAAs contra o HCC	Estudo clínico, multicêntrico, fase 2a, código aberto, (N=116) pré-tratamento com IFN e RBV (N=17), virgens de tratamento (N=69), divididos em 3 grupos com DAAs combinados diferentes, HCV genótipos(GT) 1,2,3, controles saudáveis (N=30)	Tratamento com DAAs =12 semanas; coletas de amostras de plasma no início, em cada semana do tratamento e pós-tratamento nas semanas 2, 4, 8, 12, 24, 36 e 48	GT1,2,3 níveis séricos de miR122 reduziram entre início e semana 2. Pacientes RVS os níveis de miR122 se reduziram ao mínimo na semana 8. Nos sem resposta os níveis de miR122 diminuíram inicialmente mas retornaram aos níveis basais nos GT1e2 mas não no 3.	Os resultados sugerem que os níveis séricos do miR122 podem servir como um marcador para avaliação das respostas aos tratamentos.
6	Nagarapu et al.	Jornal de Gastroenterologia da India 2016 Embase	India	Estudar a expressão dos miRNAs envolvidos na patogênese do HCV e tratamento com antivirais usando PEG IFN, RBV, Sofosbuvir+Ledispavir e Sofosbuvir+Datasclavir em pacientes com genótipos 1 e 3.	Estudo caso controle, prospectivo, centro único, código aberto, (N=150) grupo HCV genótipo 1 (N=36) grupo HCV genótipo 3 (N=64) , grupo controle saudável (N=50), antes, durante e pós tratamento.	Não relatada	A expressão do miR122 foi reduzida durante a terapia antiviral quando comparada com os pacientes não tratados nos dois genótipos. A expressão do miR122 foi reduzida durante o tratamento. O miR181a foi progressivamente aumentado após o tratamento e ainda maior pós tratamento. Os parâmetros bioquímicos mostraram correlação com a expressão dos miRNAs.	O miR122 é a molécula respondedora mais significativa com o tratamento e pode ser usado como biomarcador para a patogênese e tratamento do HCV.

LEGENDA

HCV - vírus da hepatite C

IFN -interferon

miRXXX - microRNA(número)

N - Números de pacientes da pesquisa

PEG - interferon peguilado

RBV - ribavirina

TABELA 6 - Artigos 7 e 8

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/	PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE	DESFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS
7	Meissner et al.	J Hepatite Viral. 2016 Pubmed	EUA	Comparar as mudanças endógenas do interferon, em terapias com DAAs sem IFN ou RBV entre indivíduos cirróticos e não, com análises da expressão de mRNA e miRNA, em biópsias.	Estudo clínico de fase 2, observacional transversal prospectivo, de centro único, código aberto, (N=60) virgens de tratamento HCV genotipo 1 todos tratados com DAAs	6/12 semanas	58/60 pacientes obtiveram RVS, 20 amostras foram sequenciadas pelo protocolo Illumina, 9 miRNAs conhecidos mais expressivos estavam presentes neste estudo, em contraste o miR122 foi a 4a. espécie mais abundante, levantados problemas no sequenciamento Illumina	Em contraste a outros pesquisadores o miR122 foi apenas o 4o miRNA mais abundante. Sendo justificado pelas diferenças de resultados de outras plataformas de sequenciamento. Entretanto o aumento da expressão do miR122, durante a eliminação do HCV pelos DAAs, foi significativa e sem impacto sobre a cirrose.
8	Alao et al.	Hepatologia 2016 Embase	EUA	Investigar nos microRNAs e nos genes estimulados pelo interferon (ISGs) durante o tratamento da hepatite crônica C com DAAs.	Estudo observacional transversal, centro único, (N=13) com 9/13 biópsias pareadas. RVS ocorreu em 6/9.	12 semanas	A RVS ocorreu em 6/9 pacientes. A expressão das ISGs foi maior durante o tratamento do que na linha básica. O miR122, que é um inibidor da sinalização do INFa, aumentou durante o tratamento nos casos RVS.	Os microRNAs podem regular diretamente ou indiretamente o sistema imune inato e a produção dos (genes estimulados por interferon)ISGs e contribuírem para a eliminação viral durante a terapia com DAAs. O miR122 aumentou a expressão durante o tratamento nos casos de RVS

LEGENDA

DAAs - Agentes antivirais de ação direta	HCV - vírus da hepatite C	INF - Interferon	
ISGs - genes estimulados por interferon	miRXXX - microRNA(número)	N - Números de pacientes de ação direta	
RBV - Ribavirina	RVS - Resposta virológica sustentada		

TABELA 7 - Artigos 9 e 10

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/ PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE	DESEFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS	
9	Nagarapu et al.	Jornal de Gastroenterologia da Índia 2017 Embase	Índia	Estudar a relevância dos miRNAs(miR21, miR122, miR146a, miR155 e miR181a) e identificar a cinética durante a infecção viral pelo HCV e a resposta ao tratamento com PEG-IFN+RBV no genótipo 1 e/ou 3	Estudo caso controle, prospectivo, centro único, código aberto, (N=132) grupo HCV (N=72), grupo saudável (N=60), antes, durante e pós tratamento	3-12 meses	Redução da expressão do miR122, 146a e 155 no pós tratamento, mas miR181a mostrou elevada expressão durante o tratamento. Os parâmetros bioquímicos mostraram resposta com a duração do tratamento e bem correlacionados com a expressão dos miRNAs.	Foi observado que o miR122 foi o respondedor mais significativo com o tratamento nos dois genótipos e pode ser possivelmente uma medida direta
10	Fan et al.	Patogênese Microbial 2017 BVS	China	Investigar os microRNAs circulantes no soro como biomarcadores para previsão da resposta a terapia em hepatite C crônica com genótipos diferentes.	Estudo caso controle, prospectivo, de centro único, código aberto, (N=80) grupo genótipo 1 (N=55), genótipo 2 (N=6), genótipo 4 (N=4), genótipo 6 (N=13), todos começaram tratamento com PEG-INF+RBV. Acompanhamento posterior de apenas 36 pacientes.	Entre 2013 e 2015	A média circulante no soro do miR122 foi maior para o genótipo 1 (gen 1) do que os outros 3 gens. A média circulante do miR155 foi menor no grupo controle saudável e foi diferente entre os gens. A maioria do grupo gen 1 caiu no grupo RVS e do grupo gen 6 caiu no sem resposta (NR).	Pacientes HCV de vários genótipos têm prognósticos RVS diferentes, com mecanismos não claros. O exosoma miR122 foi significativamente maior no genótipo 1 e foi associado a RVS maior que outros gens, o que sugere que ele possa ser usado como biomarcador preditivo para terapias. Expressões dos miR122+miR155 diferem nos genótipos.

LEGENDA

HCV - vírus da hepatite C	IFN -interferon	miRXXX - microRNA(número)
---------------------------	-----------------	---------------------------

TABELA 8 - Artigo 11

ITEM	AUTOR	JORNAL/ ANO/	PAÍS	OBJETIVO	MÉTODO	INTERVALO DE	DESFECHOS OBSERVADOS	RESULTADOS
11	Rashad et al.	Bioquímica Molecular e Celular 2018 Pubmed	Egito	Investigar a função dos miR27a e miR18b como biomarcadores da hepatite C crônica e suas características clinicopatológicas.	Estudo caso controle, prospectivo, de centro único, código aberto, (N=200) Grupo1: Pacientes HCC (N=60), grupo2: cirrótico pos-HCC (N=39) e grupo3: CHC (N=51), grupo controle (N=50) com idade, etnia, sexo e fumo pareados de acordo com a ``Liver American Association``, sem outras comorbidades	Única amostra de cada paciente	Os níveis séricos de miR27a e miR18b estavam aumentados no grupo cirrótico pós HCC, comparado aos grupos controle e CHC. O grau child-pugh e metástases distantes foram associados aos dois miRNAs. No grupo HCC teve aumento do miR27a somente.	Os níveis de expressão séricos dos miR27a e miR18b são diagnósticos promissores e biomarcadores não invasivos da HCC, cirróticos pós-HCC e CHC. Estes achados contrastam com Zhou et al. Que sugeriu outros 4 miRNA, incluindo o miR122 como bom biomarcador, mas não aqui.

LEGENDA

CHC - Carcinoma hepatocelular

HCC - Hepatite crônica C

N - Números de pacientes de ação direta

A maioria dos artigos (5) foi desenvolvida nos EUA e neles o foco desta RS foi estudado, tal seja: a visão dos miRNA-122 como biomarcadores. Em seguida temos o destaque da Índia com 2 artigos sobre o seu uso como biomarcadores. Com apenas um artigo temos os países: Suíça, França, China e Egito, com artigos sobre biomarcadores. Não reconhecemos nenhum artigo publicado pelo Brasil.

Todos os estudos foram prospectivos, uni ou multicêntricos, com o número de pacientes envolvidos (N) entre 13 e 200. No caso dos biomarcadores nos estudos duplo-cego randomizados, o aspecto de avaliação dos miRNAs não estava nesta modalidade pois os pacientes dos grupos foram lidos na forma de código aberto. Alguns estudos foram admitidos, embora com o grupo controle descartado dos grupos analisados, pois foi considerado que os resultados eram muito semelhantes aos trabalhos mais completos e assim aumentariam o N geral estudado.

Os anos de publicação predominaram entre 2009 e 2018, com pico em 2016. Pela faixa de tempo podemos associar o declínio das publicações sobre o tema desta RS como o sucesso alcançado pelos DAAs no tratamento da Hepatite C crônica.

O artigo de Sarasin et al. (1 – PUBMED) indica, pelos resultados obtidos, que não houve correlação entre a expressão do miR122 e a carga viral ao fim da terapia, assim não reconhecendo como bom biomarcador. Na mesma linha, Lee et al. (3 – Pubmed) e Estrabaud et al. (4 – Cochrane) não reconheceram associações clínicas com o miR122.

Os artigos que reafirmam o miR122 como bom biomarcador são os artigos de El-Diwany et al. (2 - PUBMED), Waring et al. (5 - PUBMED), Nagarapu et al. (6 e 9 - Embase), Meissner et al (7 - PUBMED) e Fan et al. (10 - BVS).

O artigo de Estrabaud et al. (4 - Cochrane) sugere as proteínas induzidas por interferon 35 (IFI35), o miR99a e o genótipo do HCV como preditores da resposta virológica sustentada (RVS) para o caso de não resposta (NR) aos tratamentos como PEG-IFN+RBV.

5.4 – Avaliação do risco de viés

Foram utilizados dois formulários de avaliação do risco de viés da ferramenta Joanna Briggs (<https://jbi.global/critical-appraisal-tools>) para os seguintes tipos de estudos, cada um com ou 8, ou 10 domínios (questões de elegibilidade): Observacional transverso (8) e Caso-controle (10), conforme anexos.

Apesar de alguns trabalhos científicos se identificarem como sendo duplo-cego randomizados, para o nosso foco da pesquisa, os miRNAs, eles foram estudados de forma caso controle ou observacional, transverso, no meio de outra pesquisa.

A tabela verdade de classificação dos 11 estudos que satisfizeram a todos os critérios de elegibilidade e a avaliação dos riscos de viés Joanna Briggs aparecem na tabela 4, a seguir:

			DOMÍNIOS DE RISCO DE VIÉS JOANNA BRIGGS										
			D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	INCLUÍDO
E S T U D O S C L Í N I C O S	1	Sarasin-F et al.	Y	NO	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	SIM
	2	El-Diwany et al.	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	SIM
	3	Lee et al.	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	Y			SIM
	4	Estrabaud et al.	Y	Y	Y	Y	NO	NO	Y	Y			SIM
	5	Waring et al.	Y	Y	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	SIM
	6	Nagarapu et al.	Y	Y	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	SIM
	7	Meissner et al.	Y	Y	Y	Y	NO	NO	Y	Y			SIM
	8	Alao et al.	Y	Y	Y	Y	NO	NO	Y	U			SIM
	9	Nagarapu et al.	Y	Y	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	SIM
	10	Fan et al.	Y	NO	Y	Y	Y	NO	NO	Y	Y	Y	SIM
	11	Rashad et al.	Y	Y	Y	Y	Y	NA	NA	Y	Y	Y	SIM

Legenda:

Y = Sim

NO = Não

NA = Não se aplica

U = Não claro

-

(Unclear)

Tabela 9 = Tabela de risco de viés da RS

Como avaliação final do risco de viés desta RS podem ser destacados 3 domínios:

- I) Devido ao nosso foco qualitativo, algumas pesquisas não detalharam claramente os aspectos de estatísticas utilizadas para elucidar os aspectos de significância dos achados, mas os artigos indicados, principalmente nas bases de dados Embase e Cochrane, não forneceram publicações completas e quando o artigo foi selecionado seus resultados estão muito próximos dos esperados sendo portanto considerados para a RS, mesmo sem uma clara explanação das ferramentas estatísticas utilizadas.
- II) Algumas pesquisas não possuem o casamento perfeito entre o grupo de intervenção e o controle, mas foram considerados elegíveis porque da mesma forma do viés estatístico, os resultados foram semelhantes aos dos estudos mais fidedignos ao pareamento numérico dos grupos estudados.
- III) O viés mais preocupante seria a da confiabilidade atual dos equipamentos sequenciadores dos miRNAs utilizados nas pesquisas, principalmente quando são identificados os miRNAs no sangue e nas biópsias hepáticas, conforme descrito no item 1.12 da dissertação desta RS.

6 DISCUSSÃO

Nesta RS foram verificadas as funções dos miRNAs no sangue e no fígado de pacientes com hepatite C crônica, tanto na possibilidade do uso como biomarcadores ou como tratamento da doença propriamente dita.

11 artigos destacaram diversos miRNAs candidatos a biomarcadores e dentre eles, o miR122 como o principal, variando sua expressão de acordo com o tipo do genótipo viral envolvido (1, 2, 3 ou 4), confirmado por Waring et al., Nagarapu et al., Fan et al., Alao et al. como marcador para as respostas aos tratamentos tantos clássicos como o IFN+RBV como para os atuais bem sucedidos DAAs. Nos estudos de Estrabaud et al. (9 – Cochrane) e de Sarasin-F et al. (3 – PUBMED) o miR122 não se apresentou como bom candidato a marcador, já no estudo de Lee et al.(5 – PUBMED) não foram evidenciadas associações entre o miR122 e a apolipoproteína. O fato do miR122 ser o alvo de todos os tratamentos notadamente coadjuvantes aos bem sucedidos DAAs, anda o mantém como o principal miRNA da hepatite C. Outro detalhe bem observado é o da conservação da região de encaixe do miR122 no genoma viral, apesar das inúmeras variantes virais.

Para o caso dos biomarcadores para o carcinoma hepatocelular o miR27a foi o destacado, sendo que para marcador de metástases a distância tanto o miR27a como o miRNA18b se destacaram como promissores.

Desta forma podemos concluir que os microRNAs são moléculas promissoras, de amplas ações sobre o acompanhamento e tratamento de pacientes com hepatite C crônica, mas com o sucesso dos DAAs, cuja RVS ultrapassa os 95%, o possível apoio como tecnologia e ferramenta de apoio diagnóstico não é mais necessário.

7 CONFLITOS DE INTERESSE

O Autor e os dois revisores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bajis, Sahar: *Novos Sistema de Diagnóstico e Tratamento do Virus da Hepatite C (HCV): Facilitando a eliminação do HCV pensando fora da clínica*: The Journal of Infectious Diseases, Volume 222, Issue Supplement, 2020.

Baran-Gale, J et al.: *Lidando com o viés na preparação de pequenas bibliotecas de RNA para sequenciamento: um novo protocolo recupera microRNAs que evitam a captura pelos métodos atuais*, Frente Genet., 2015.

Bartenschlager, R.: *Hepatitis C virus: From Molecular Virology to Antiviral Therapy*, Current Topics in Microbiology and Immunology, volume 369, 2013.

Bertolini, D. A. et al.: *Manual Técnico para o Diagnóstico das Hepatites Virais*, 2018, acesso em https://qualitr.paginas.ufsc.br/files/2018/08/manual_tecnico_hepatites_08_2018_web.pdf, em 18 05 2022.

Bhaskaran, M.; Mohan, M.: *MicroRNAs: História, Biogênese e Seu Papel Evolutivo no Desenvolvimento e Doença animal*, Patol veterinário, 2014.

Blach, S. et al.: *Prevalência global e distribuição de genótipos da infecção pelo vírus da hepatite C em 2015: um estudo de modelagem*, Lancet Gastroenterol. Hepatol: 2017.

Brandão, Carlos Eduardo: *Curso Pré-Congresso: Hepatologia 2021*, XXVI congresso brasileiro de hepatologia, 2021.

Bryzgunova, O et al.: *Isolamento de miRNA de células de fluidos biológicos: fatores e métodos de influência*, Diagnóstico (Basileia), 2021.

Bula do Sofosbuvir, visto em <https://consultaremedios.com.br/sofosbuvir/bula>, em 10/06/2022, 15:39.

Cheng, L. et al.: *Tendências no desenvolvimento de ferramentas de bioinformática de miRNA*, Breve Bioinform, 2019. bioinformática de miRNA

CONITEC: *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Hepatite C e Coinfecções*, N°360, 2018.

Cursino, C. N.; Elias, S. C. : *A Evolução do Tratamento da Hepatite C no Brasil*, Administração e Gestão da Assistência da Farmacêutica, série boletins, UFF, 2019.

Dash, S. et al.: *Mecanismos do Carcinoma Hepatocelular Associados à infecção Crônica do HCV e o impacto do tratamento de ação direta*, J Hepatocell Carcinoma, 2020.

Diamond, D. L. et al.: *Perfis de Proteoma Temporal e Lipidoma Revelam Reprogramação do Metabolismo Hepatocelular e Bioenergética Associada ao Vírus da Hepatite C*, PLOS Pathogens, 2010.

Divisato, G. et al.: *MicroRNAs e propriedades semelhantes a hastes: a regulação complexa subjacente à manutenção da haste e ao desenvolvimento de câncer*, Biomoléculas, 2021.

Foucher, J. et al.: *Diagnóstico de cirrose por elastografia transitória (Fibroscan): um estudo prospectivo*; Intestino, 2006.

Ginès, P. et al.: *Cirrose hepática*, Seminário, 2021.

González-Grande, R. et al.: *Novas abordagens no tratamento da hepatite C*, Mundial J Gastroenterol., 2016.

Grassi, G. et al.: *O vírus da hepatite C depende de lipoproteínas para seu ciclo de vida*, Mundial J Gastroenterol, 2016.

Hanif, F.H. et al.: *Revolução no diagnóstico e manejo da infecção pelo vírus da hepatite C na era atual*, Mundial J Hepatol, 2022.

Janssen, H. LA et al.: *Tratamento da infecção por HCV visando microRNA*, N Engl J Med, 2013.

Martinez, M.A.; Franco,S: *Implicações da Terapia da Diversidade Genética do Vírus da Hepatite C*, 2020.

Martins, L: *Influência dos poliformismos do gene IL-28B na resposta à terapia com interferon peguilado e ribavirina em pacientes tratados por hepatite C crônica*, dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2014.

miR-122 - *Um fator chave e alvo terapêutico na doença hepática*, Revista de Hepatologia, 2015.

Miranda, A. E. B. et al: *Hepatites Virais 2021*, *Boletim Epidemiológico*, Ministério da Saude, 2021.

Miravirsen - Roche: Drug Profile: visto em <https://adisinsight.springer.com/drugs/800027630>,as 14:53 em 08 06 2022.

Morishita, A. et al.: *MicroRNA como biomarcador em cânceres gastroenterológicos*, Int J Mol Sci, 2022.

Mott, J. L.; Mohr, M. A.: *Visão Geral da biologia do microRNA*. Semin Fígado Dis., 2015.

O'Brien, J. et al.: *Visão geral da biogênese do microRNA, mecanismos de ação e circulação*, Frente. Endocrinol, 2018.

OMS, Hepatite C: visto em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis->

Rachad, N. M. et al.: *Soro miRNA-27a e miRNA-18b como potenciais biomarcadores de carcinoma hepatocelular associado ao vírus da hepatite C*, *Biologia Molecular e Celular*, 447, 125-136, 2018.

Ree, M. H. v. d. et. Al: *Segurança e eficácia a longo prazo da terapia direcionada por microRNA em pacientes com hepatite C crônica*, *Pesquisa antiviral*, volume 111, 53-59, 2014.

Rorbach, G. et al.: *Distinguindo mirtrons de miRNAs canônicos com métodos de exploração de dados e aprendizado de máquina*, *scientific reports*, 2018.

Tahata, Y. et al.: *Progresso e expansão do tratamento no Japão: do interferon ao antiviral de ação direta*, *Globo Saúde Med.*, 2021.

Viekira pak, visto em <https://consultaremedios.com.br/viekira-pak/bula>, em 10 06 2022, 17:49.

Waring, JF et al.: *O miR-122 sérico pode servir como biomarcador para respostas a antivirais de ação direta: efeito do paritaprevir/R com dasabuvir ou ombitasvir no miR122 em indivíduos infectados pelo HCV*, *Jornal Hepatites Virais*, 2016.

Zhou, X. et al.: *Sistema de reator circulante microfluídico para detecção de micorRNA mediada por nuclease específica de duplex sensível automatizada*, *Talanta*, 2021.

Zhu, H. et al.: *miRNAs regulam a resposta imune e a sinalização durante a infecção pelo vírus da hepatite C*, *Revista Européia de Pesquisa Médica*, 2018.

ANEXO A – Check List Joanna Briggs para estudos observacionais transversos

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR ANALYTICAL CROSS SECTIONAL STUDIES

Reviewer _____ Date _____

Author _____ Year _____ Record Number _____

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Were the criteria for inclusion in the sample clearly defined?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were the study subjects and the setting described in detail?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Was the exposure measured in a valid and reliable way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Were objective, standard criteria used for measurement of the condition?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Were confounding factors identified?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Foram declaradas estratégias para lidar com fatores de confusão?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were the outcomes measured in a valid and reliable way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Was appropriate statistical analysis used?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (including reason for exclusion)

ANEXO B – Check list Joanna Briggs para estudos caso-controlle

JBI CRITICAL APPRAISAL CHECKLIST FOR CASE CONTROL STUDIES

Reviewer _____ Date _____

Author _____ Year _____ Record Number _____

	Yes	No	Unclear	Not applicable
1. Were the groups comparable other than the presence of disease in cases or the absence of disease in controls?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Were cases and controls matched appropriately?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Were the same criteria used for identification of cases and controls?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4. Was exposure measured in a standard, valid and reliable way?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Was exposure measured in the same way for cases and controls?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Were confounding factors identified?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Were strategies to deal with confounding factors stated?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Were outcomes assessed in a standard, valid and reliable way for cases and controls?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Was the exposure period of interest long enough to be meaningful?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Was appropriate statistical analysis used?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Overall appraisal: Include Exclude Seek further info

Comments (Including reason for exclusion)
