



## A expressão diferencial de microRNAs virais modula a patogenicidade da infecção

The differential expression of viral microRNAs modulates the pathogenicity of infection

La expresión diferencial de los microARN virales modula la patogenicidad de la infección

Marcos Daniel Mendes Padilha<sup>1</sup>, Keise Adrielle Santos Pereira<sup>1</sup>, Alexandre Augusto Bentaberry Rosa<sup>1</sup>, Rogério Valois Laurentino<sup>1</sup>, Jacqueline Cortinhas Monteiro<sup>1</sup>, Rosimar Neris Martins Feitosa<sup>1</sup>.

### RESUMO

**Objetivo:** Caracterizar o perfil de miRNAs virais, seus mecanismos de patogênese e descrever sua interação com o hospedeiro. **Métodos:** Essa pesquisa é uma revisão integrativa, as palavras-chaves foram padronizadas de acordo com os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), as bases de dados consultadas foram o NCBI, LILACS, BVS e SciELO. **Resultados:** Os miRNAs regulam negativamente a sinalização IFN $\gamma$ , RIGI, suprimindo a resposta imune inata, funcionam como imunomoduladores também sendo regulados positivamente e várias vias como PI3K/Akt e ERK/MAPK mantêm a patogênese. A regulação negativa da sinalização do interferon tipo I, inibindo citotoxicidade de linfócitos *natural killer* atenua a resposta imunológica e leva a depleção do sistema imune por essas moléculas, membros da família Let-7 podem reprimir a via de apoptose por inibição de BCL2L2 potencializando infecções. **Considerações finais:** Os miRNAs são movidos por amplo espectro de interações, ocasionando desregulação de vias de sinalização em processos infecciosos, no entanto, essas moléculas podem ser biomarcadores terapêuticos de interesse, auxiliando no prognóstico e diagnóstico de pacientes com infecções virais.

**Palavras-chave:** Pri-miRNAs, Proteína argonauta, Compartimento de replicação de vírus, Vesícula de membrana induzida por vírus.

### ABSTRACT

**Objective:** To characterize the profile of viral miRNAs, their mechanisms of pathogenesis and describe their interaction with the host. **Methods:** This research is an integrative review, the keywords were standardized according to the Descriptors in Health Sciences (DeCS), the databases consulted were the NCBI, LILACS, VHL and SciELO. **Results:** MiRNAs negatively regulate IFN $\gamma$ , RIGI signaling, suppressing the innate immune response, function as immunomodulators also being positively regulated and various pathways such as PI3K/Akt and ERK/MAPK maintain pathogenesis. The negative regulation of interferon type I signaling, inhibiting cytotoxicity of natural killer lymphocytes attenuates the immune response and leads to depletion of

<sup>1</sup> Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém - PA.

the immune system by these molecules, members of the Let-7 family can repress the apoptosis pathway by inhibiting BCL2L2 potentiating infections. **Final consideration:** MiRNAs are driven by a wide spectrum of interactions, causing deregulation of signaling pathways in infectious processes, however, these molecules can be therapeutic biomarkers of interest, aiding in the prognosis and diagnosis of patients with viral infections.

**Keywords:** Pri-miRNAs, Argonaute protein, Virus replication compartment, Virus-induced membrane vesicle.

## RESUMEN

**Objetivo:** Caracterizar el perfil de los miARN virales, sus mecanismos de patogénesis y describir su interacción con el huésped. **Métodos:** Esta investigación es una revisión integradora, las palabras clave fueron estandarizadas según los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS), las bases de datos consultadas fueron el NCBI, LILACS, VHL y SciELO. **Resultados:** Los miARN regulan a la baja la señalización de IFN $\gamma$ , RIGI, suprimen la respuesta inmunitaria innata, funcionan como inmunomoduladores y también se regulan al alza y varias vías, como PI3K/Akt y ERK/MAPK, mantienen la patogénesis. La regulación a la baja de la señalización del interferón tipo I, que inhibe la citotoxicidad de los linfocitos asesinos naturales, atenúa la respuesta inmunitaria y conduce al agotamiento del sistema inmunitario por estas moléculas, los miembros de la familia Let-7 pueden reprimir la vía de la apoptosis al inhibir BCL2L2, lo que potencia las infecciones. **Consideraciones finales:** Los miARN son impulsados por un amplio espectro de interacciones, causando la desregulación de las vías de señalización en procesos infecciosos, sin embargo, estas moléculas pueden ser biomarcadores terapéuticos de interés, ayudando en el pronóstico y diagnóstico de pacientes con infecciones virales.

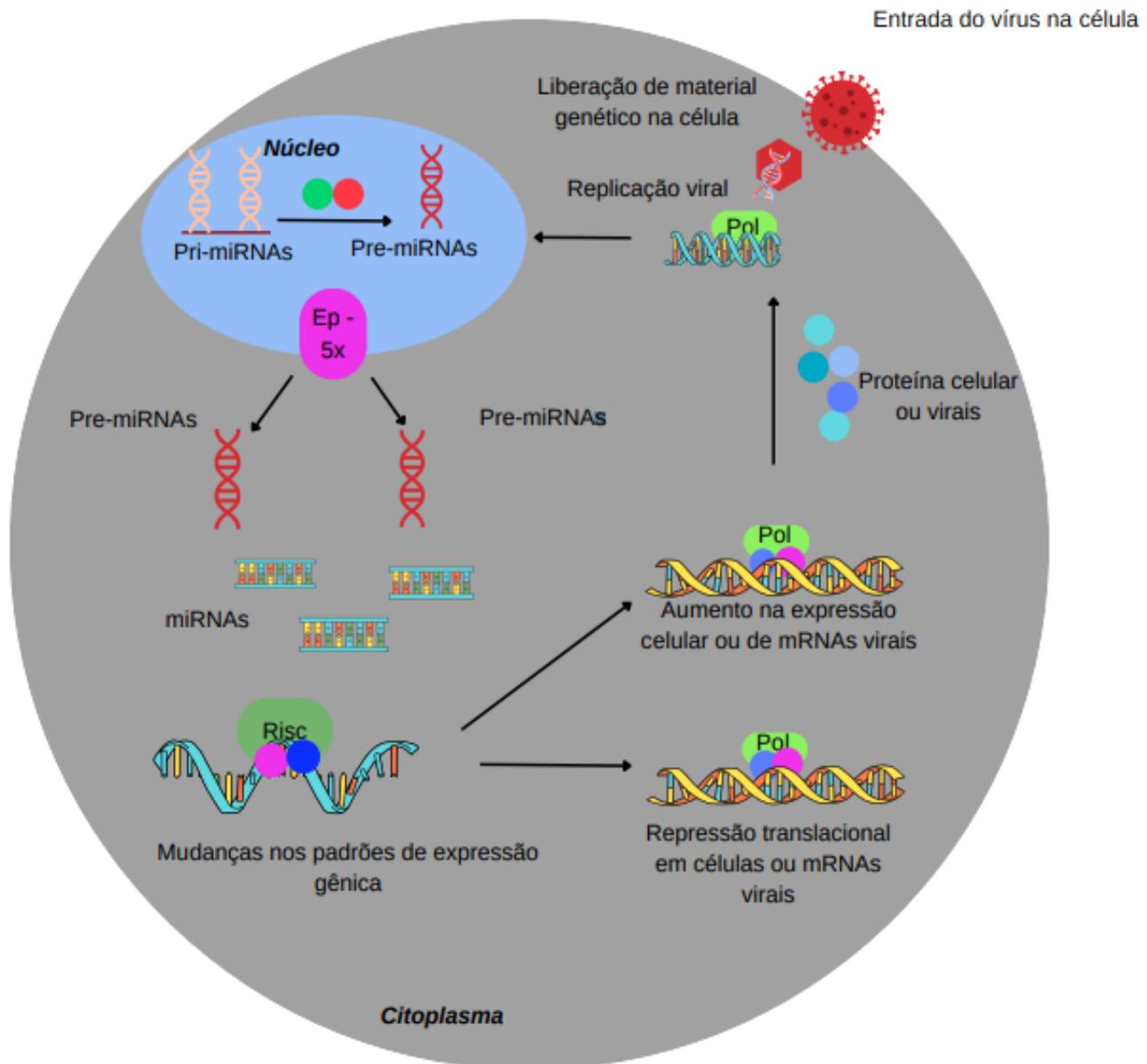
**Palabras clave:** Pri-miRNAs, Proteína argonauta, compartimento de replicación viral, vesículas de membrana inducidas por virus.

## INTRODUÇÃO

O primeiro microRNA (miRNA) descrito foi descoberto no nematódeo *Caenorhabditis elegans*, essas moléculas são pequenos RNAs não codificantes com cerca de 22 nucleotídeos, conhecidos como reguladores pós-transcricionais, os quais têm como alvos mRNAs por meio do pareamento de bases. Detectados como reguladores moleculares onipresentes, possuem funções de controle da expressão gênica em diferentes espécies, incluindo desenvolvimento celular, proliferação, apoptose, infecções, câncer e metabolismo. A biogênese dos miRNAs começa no núcleo com a transcrição pela RNA polimerase II, os transcritos são miRNAs primários (pri-miRNA) que são processados por duas enzimas da família RNase III, Drosha e Dicer. A primeira etapa é mediada pelas enzimas Drosha e DGCR8 onde ocorre no núcleo, a segunda etapa ocorre no citoplasma onde os pré-miRNAs são processados pela enzima Dicer (AFSHARI A, 2021; PIEDADE D e AZEVEDO-PEREIRA JM, 2016).

A enzima Dicer interage com a proteína de ligação de RNA responsiva à ativação gênica (TRBP), após a clivagem o miRNA maduro é carregado por proteínas argonautas (Ago1-4), que compõem o complexo de silenciamento RISC. As proteínas Ago desenrolam o duplex de miRNA maduro e usam uma fita, conhecida como fita guia, para direcionar mRNAs em uma sequência específica. Enquanto os miRNAs se ligam geralmente a região *downstream* (a jusante no sentido 3') de seus mRNAs alvos, eles também foram relatados direcionando a região *upstream* (no sentido 5') e sequências de codificação de mRNAs. A regulação da infecção viral mediada por miRNAs foi descrita em uma variedade de hospedeiros, em ambas as famílias de vírus de DNA e RNA, tais regulações desempenham papéis cruciais na replicação viral, manutenção de latência, reativação, evasão imune e transformação celular (LEE I, et al., 2009; BERNIER A e SAGAN SM, 2018). **Figura 1** (Criada em [canva.com](https://www.canva.com)) apresenta o esquema de desregulação induzida por vírus na maquinaria celular mediando repressão translacional e superexpressão de genes celulares e virais.

**Figura 1** - Mecanismo de formação e patogênese de miRNAs induzidos por vírus na maquinaria celular hospedeira.



**Subtítulo:** Importância e especificidade de miRNAs: Pri-miRNA (microRNA primário), Pre-miRNA (pré-microRNA), miRNA (microRNA), RISC (complexo silenciador induzido por RNA), Pol (polimerase), Ex-p5 (Exportina 5).

**Nota:** imagem criada pela plataforma canva.com

**Fonte:** Padilha MDM, et al., 2023.

A família de miRNA Let-7 está entre os miRNAs com maior nível de expressão em vários tipos celulares, muitos estudos relataram a desregulação de miRNAs Let-7 em muitas infecções virais, suas funções podem desempenhar um papel no controle de infecções virais, bem como vírus associados ao câncer. Acredita-se que os vírus explorem muitos elementos da maquinaria de expressão de genes, miRNAs podem ter papel como biomarcadores de tumores relacionados a vírus, além de potenciais biomarcadores clínicos (WU W, et al., 2022).

Existem quatro estratégias para descobrir as funções de miRNA virais: (I) alvo antisenso, (II) predição computacional, (III) perfil de expressão de cDNA comparativo e (IV) identificação dos fenótipos e funções putativas, sendo primeiro identificados, confirmados no contexto da infecção e utilizados para identificar alvos relevantes. Os modelos emergentes dessas estratégias devem ser testados no contexto da infecção em um tipo celular relevante (GRUNDHOFF A e SULLIVAN CS, 2011).

Existem miRNAs que podem ser gerados em diferentes vias nas quais nem todas as proteínas e fatores utilizados na via canônica são necessários, eles podem ser gerados por vias independentes de Drosha/DGCR8 e Dicer. Esses miRNAs não canônicos, podem ser derivados de íntrons, pequenos RNAs nucleolares (snoRNAs), RNAs endógenos em grampo curto (shRNAs) e RNAs de transferência (tRNAs) (MOLES R, et al., 2015).

Até o momento, mais de 200 miRNAs virais foram identificados, predominantemente em herpesvírus, poliomavírus, ascovírus e adenovírus. Esses vírus têm acesso aos fatores de processamento pri-miRNA e DGCR8 nucleares, sendo envolvidos na reprogramação celular para regular a troca latente e lítica, sobrevivência, diferenciação celular, além de modular as respostas imunes inatas e adaptativa (SKALSKY RL e CULLEN BR, 2010).

Desse modo, não é surpreendente que os miRNAs estão implicados em vários processos celulares, incluindo proliferação celular, apoptose, metabolismo, imunidade e infecções virais no hospedeiro. Assim, o objetivo desta pesquisa foi descrever o perfil de expressão de miRNAs virais e hospedeiros na patogênese da infecção, caracterizar como o sistema imunológico sofre depleção pelas vias de sinalização dos miRNAs alvos e elucidar as principais vias de sinalização que são desreguladas nos processos infecciosos.

## MÉTODOS

Se trata de uma pesquisa de revisão bibliográfica integrativa, com análise sistemática, os critérios de elegibilidade se basearam em 4 aspectos clínicos de miRNAs de infecções virais que foram (i) Regulação de vias associadas a oncogênese; (ii) miRNAs codificados por oncovírus; (iii) membros de miRNAs da família Let 7 desregulados em infecções virais e (iv) associação de miRNAs virais com a depleção do sistema imunológico.

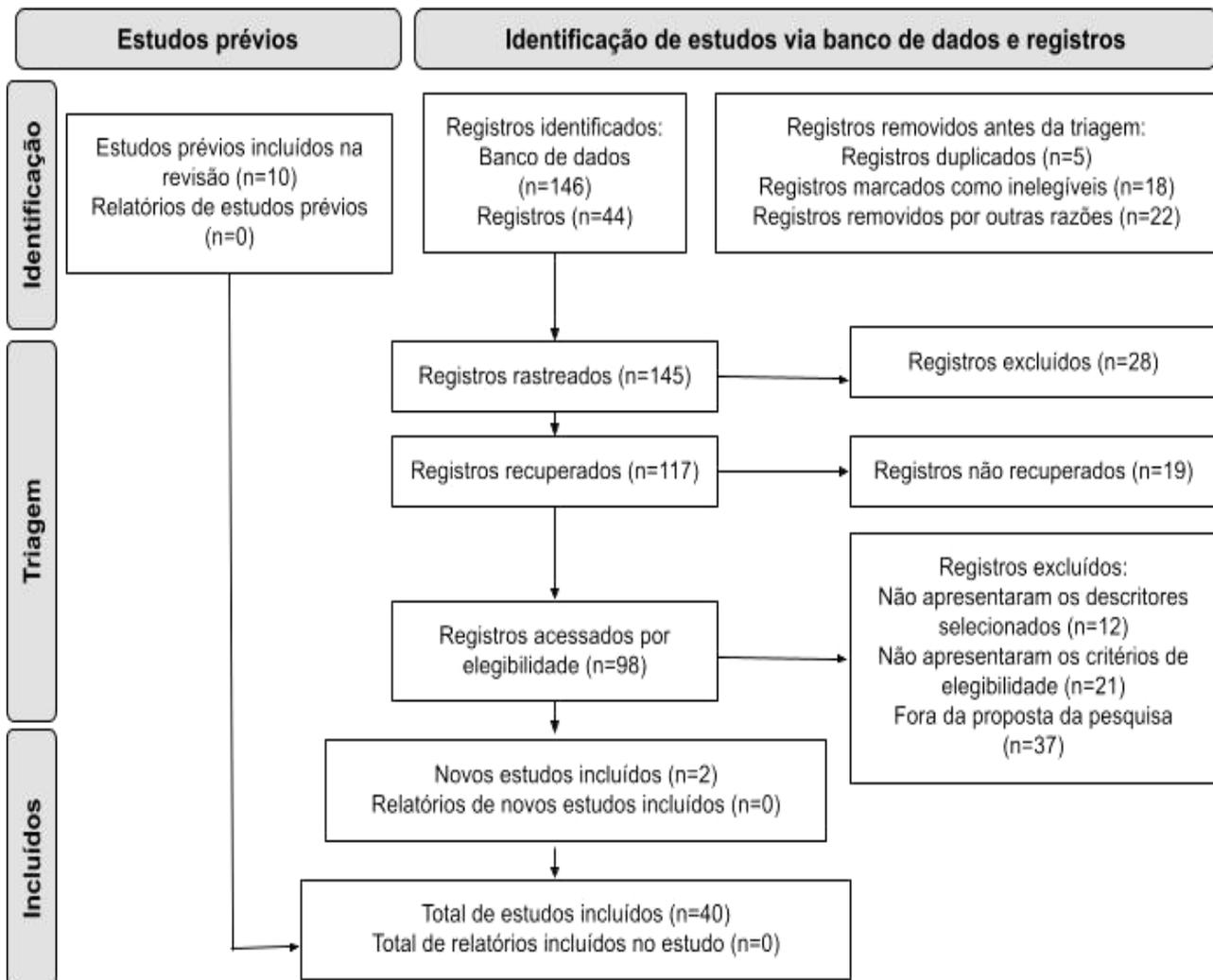
Os termos chaves foram padronizados de acordo com os descritores em ciências da saúde (DeCS) sendo: Pri-miRNAs, Proteína argonauta, Compartimento de replicação de vírus, Vesícula de membrana induzida por vírus.

As bases de dados consultadas para a seleção dos artigos foram o National Center Biotechnology Information (NCBI), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Biblioteca Virtual em saúde (BVS), Periódicos Capes, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Websites. 200 artigos foram avaliados, mas apenas 40 artigos foram incluídos nessa revisão, os estudos incluídos foram estudos experimentais de fase I e II, revisões da literatura e estudos em fase teste, mas que já possuíam aprovação da comunidade científica.

Utilizamos 2 estratégias de busca para a pesquisa, na primeira com o filtro todos os bancos de dados ativado onde os artigos foram lidos e categorizados na íntegra, a triagem foi realizada pela análise dos títulos, resumos, resultados e discussão onde foram considerados como elegíveis para compor a pesquisa. Os artigos escolhidos foram todos em idioma inglês, 8 artigos para compor a sessão de introdução, 9 para os resultados e 23 para discussão.

Na segunda estratégia de busca, utilizamos como assunto principal miRNAs desregulados, miRNAs virais e miRNAs de herpesvírus. Em ambas as pesquisas descartamos relatórios técnicos, capítulos de livros, estudo de caso e informações de anais de congresso. Para a triagem dos artigos foram utilizadas informações do relatório preferido para revisões sistemáticas e meta-análises (PRISMA) 2020. **Figura 2** (criada com a ferramenta de desenhos do *Google Docs*) apresenta o fluxograma PRISMA para seleção dos artigos.

**Figura 2** - Fluxograma PRISMA do processo de triagem e seleção dos artigos.



**Nota:** foi utilizado para construção o Google Docs.

**Fonte:** Padilha MDM, et al., 2023.

## RESULTADOS

Durante a infecção pelo vírus Epstein-Barr (VEB) o miRNA-BHRF-1-3-5p regula negativamente a quimiocina 11 que é um fator a jusante de sinalização  $IFN\gamma$ , no caso do miRNA-BART6-3p tem como alvo o gene induzível por ácido retinóico I (RIGI) suprimindo respostas imunes inatas do hospedeiro, os miRNA-BART20-5p e miRNA-BART8 visam  $IFN\gamma$  e o sinal transdutor e ativador 1 (STAT1), o miRNA-BART16 tem como alvo o elemento de resposta cAMP proteína de ativação CBP, um coativador transcricional para a sinalização IFN tipo I em células B e epiteliais infectadas para inibir a sinalização IFN (LIZASA H, et al., 2020).

Os miRNA-K10 e miRNA-K12 do herpesvírus humano 8 ou herpesvírus associado ao sarcoma de kaposi (HVS-K) são ainda induzidos durante a fase lítica, em células infectadas latentemente até 2.200 cópias de um miRNA individual podem ser expressas em uma única célula, além de direcionar diretamente os genes virais, interferem na vigilância imunológica, o miRNA-K11 atenua a sinalização de IFN tipo I, enquanto que o miRNA-K7 liga-se a *downstream* de MICB, o ligante de *natural killer* (NK), a inibição leva a um ataque reduzido de

NK, contribuindo para uma cascata de citocinas inflamatórias excessivas, o que leva ao SK (QIN J, et al., 2017).

Os vírus herpes simplex (VHS) induzem fortemente o miRNA-23a, que coincide com a depleção do fator de transcrição regulador de interferon (IRF1), sendo conhecido como um oncomiRNA, o miRNA-373 limita a expressão de muitas proteínas envolvidas na resposta IFN, proteínas quinase e facilita a replicação de VHS; os miRNA-146a, miRNA-183/96/182 funcionam como imunomoduladores sendo regulados positivamente e superexpressos na infecção VHS e várias vias essenciais para replicação são reguladas para manter a patogênese como PI3K/Akt e ERK/MAPK (BRDOVČAK MC, et al., 2018).

O miRNA-UL112-3p é o mais estudado dos miRNAs de citomegalovírus humano (VCMH) envolvido no escape apoptótico e latência do vírus, ele se liga à *downstream* do MICB inibindo sua expressão, tem sido relatado que esse miRNA induz regulação negativa da sinalização do interferon tipo I, inibindo citotoxicidade de linfócitos *natural killer*, seu alvo pode ser o TLR2 (CD282) o que ocasiona uma redução de ubiquitinação do receptor IRAK1, contribuindo para o estado de latência. A expressão miRNA-UL112-3p também induz proliferação excessiva de células endoteliais por MAPK e genes de crescimento celular TSPYL2, FXYD2, TAOK2, ST7L e TP73 (ZHANG, et al., 2020).

A infecção por influenza pode ativar miRNAs Let 7, miRNA-30a-c e miRNA-26e que podem ter como alvo a função de muitos genes no reparo pulmonar, muitas evidências experimentais sugerem que o miRNA-29c é regulado positivamente na infecção H1N5, sendo envolvido na via de apoptose por repressão de BCL2L2, os miRNAs-29a-b podem ser regulados positivamente na infecção por H1N1, sendo como potenciais controladores durante os estágios iniciais de infecção, o miRNA-484 é desregulado em H1N1 e H1N5, induzindo produção de furina promovendo mecanismo de entrada dependente (MAKKOCH J, et al., 2016).

miRNAs de *Flavivírus*, vírus de RNA de cadeia simples como ZIKV, que são transmitidos por artrópodes hematófagos, influenciam diretamente os genes de desenvolvimento PAX3 e NOTCH2 o que leva a defeitos no sistema nervoso central, alguns estudos sugeriram que o miRNA-124-3p medeia a microcefalia, inibindo seu gene alvo relacionado a regulação do ciclo celular TFRC. Foi analisado que o miRNA-9 é superexpresso após a infecção por ZIKV e o fator neurotrófico derivado das células gliais (GDNF) regulado negativamente é um alvo desse miRNA, o GDNF pode proteger os progenitores neurais da apoptose induzida pelo miRNA-9 relacionada ao fenótipo de microcefalia (CAI W, et al., 2022).

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) induz regulação positiva do miRNA-2010-5p para suprimir TGIF2, o que resulta na parada do ciclo celular G2, os dados sugeriram que o Vpr regula positivamente o nível de miRNA-210-5p ativando NF-κB, a expressão do miRNA-210 também está alterada em indivíduos com HIV, sendo associada a marcadores de inflamação sistêmica, esse miRNA está associado a angiogênese, resposta ao dano de DNA, o que pode envolver amplamente a interação entre o HIV e o hospedeiro, desempenhando funções diferentes nos estágios de infecção (QIAO J, et al., 2021).

O vírus T linfotrófico humano 1 (HTLV-1) modula diretamente a expressão de pelo menos dois miRNAs pela transativação dos promotores miRNA-130b e miRNA-146a, favorecendo replicação ou oncogenicidade, um único transcrito TP53INP1 é direcionado pelos miRNA-93, miRNA-130b e miRNA-155 que são superexpressos na leucemia de células T no adulto (LTA), vários miRNAs são reprimidos em células LTA, como os Let 7 sobre a transformação tumoral por RAS e MYC ou miRNA-34b induzindo parada do ciclo celular, amplificando a interação do HTLV-1 com miRNAs nas vias de transformação (BOUZAR AB e WILLEMS L, 2008).

miRNAs induzidos pelo vírus da hepatite C (VHC) como o miRNA-200c, que é altamente expresso em pacientes crônicos, regula negativamente a proteína associada a fas (FAP)-1 e consequentemente ativa a via de sinalização mediada por Src quinases sendo sugestivo de fator promotor de fibrose hepática, outros resultados mostraram que os miRNA-121 e miRNA-122 inibiram a expressão do inibidor de quinase dependente de ciclina (CDKN1B) e correlacionou-se positivamente a expressão de colágeno Col1A1 relacionado a fibrose e α-actina no músculo liso (SMA) (LI H, et al., 2016) (**Quadro 1**).

**Quadro 1** - Síntese dos principais achados sobre o perfil de patogênese de miRNAs virais no hospedeiro.

N	Autores (Ano)	Objetivos	Conclusão	Contribuição
1	LIZASA H, et al. (2020)	Descrever a localização e organização de miRNAs virais, modulando a expressão gênica viral por imunidade inata e adaptativa.	O VEB usa miRNAs para alternar entre infecção lítica e latente, isso ajuda a manter a infecção por VEB e evita o reconhecimento imunológico.	Pesquisa de revisão bibliográfica onde o autor descreveu o papel dos miRNAs codificados pelo VEB na regulação imunológica e doenças associadas.
2	BRDOVČAK MC, et al. (2018)	Elucidar o mecanismo de interação do VHS com a maquinaria de miRNAs do hospedeiro.	Os papéis do hospedeiro e dos miRNAs virais são mais fáceis de perceber na fase latente, mas os desafios experimentais permanecem devido a latência ser limitada a experimentos em modelos animais.	Estudo de revisão em que o autor abordou os miRNAs do hospedeiro explorados por VHS e desafios experimentais em abordar as funções dos miRNAs de VHS e as perspectivas para novas pesquisas na área.
3	MAKKOCH J, et al. (2016)	Investigar perfis de expressão de miRNAs celular operando em resposta ao vírus influenza no estágio inicial de infecção.	O estudo demonstra uma visão de como o vírus influenza pode desencadear o mecanismo celular hospedeiro e também como as células podem manipular o processo celular para se defender da infecção por mecanismo de miRNA.	Pesquisa experimental que forneceu informações no estágio inicial de infecção e pode gerar alguns potenciais miRNAs candidatos a genes alvo previstos.
4	CAI W, et al. (2022)	Elucidar a relação da infecção de <i>Flavivirus</i> com os miRNAs.	O estudo sugere que a família miRNA-146a, miRNA-155 e miRNA-34 sejam potenciais alvos antivirais para pesquisas futuras.	Estudo de revisão que analisou os miRNAs diferencialmente expressos por membros do gênero <i>Flavivirus</i> .
5	BOUZAR AB e WILLEMS L (2008)	Analisar como a HTLV-1 pode induzir miRNAs celulares para replicação persistente e propósitos oncogênicos.	Vários miRNAs Let-7 são reprimidos na LTA como o 146a, inativando os supressores de tumor Ras e Myc.	Pesquisa bibliográfica que fornece exemplos de como o HTLV-1 pode cooptar e subverter miRNAs envolvidos na apoptose, proliferação e imunidade inata
6	LI H, et al. (2016)	Definir a interação dos miRNAs hospedeiros e o VHC.	A replicação do VHC regula positivamente e negativamente genes de vias de sinalização, essa interação torna genes intermediários reguladores de miRNAs em escala genômica levando a progressão da doença.	Pesquisa de revisão que demonstrou que os miRNAs podem servir como biomarcadores prognósticos/diagnósticos em pacientes com VHC com doenças hepáticas.

Fonte: Padilha MDM, et al., 2023.

## DISCUSSÃO

### Modulação de vias associadas à patogênese

A via de transdução WNT promove o sinal transportado do meio extracelular para o citosol, desempenhando papel crítico no crescimento celular e desenvolvimento, o miRNA-34 demonstrou ter efeito nessa via, alguns estudos com o gênero *flavivirus*, que causam dengue, chikungunya, febre amarela, sugeriram relação entre WNT e mecanismos imunes inatos, o miRNA-34 é capaz de suprimir essa via, o que permite amplificação da infecção e patogênese (BARBU MG, et al., 2020).

Os miRNAs podem ser responsáveis pela variação de resposta imune através da via de sinalização NF- $\kappa$ B, uma das maneiras de regular NF- $\kappa$ B é controlando a expressão dos PRRs (receptores de reconhecimento de padrões), foi demonstrado que o HVSK e HIV levam a uma diminuição na expressão miRNA-223 e Let 7, superegulando a expressão de TLR3 e TLR4, aumentando os níveis de dano tecidual e inflamação (MA X, et al., 2011; ANDROULIDAKI A, et al., 2009).

miRNAs de VEB, tem como alvo genes envolvidos no processamento de antígenos, como cistatina B (CSTB) asparagina endopeptidase (LGMN) e tiol redutase induzível por IFN $\gamma$ , dessa forma a apresentação de antígenos é reduzida em células infectadas, o miRNA-BART-18-5p tem como alvo a proteína quinase 2 ativada por mitógeno (MAP3K2) que é um efetor *downstream* na sinalização BCR, outra proteína de membrana é o antígeno linfocitário (LY75) expressa em células dendríticas, induz diferenciação de células Th0 para Th1 e o miRNA-BART-1-5p tem como alvo LY75 suprimindo a diferenciação Th1 (MURER A, et al., 2019; QIU J e THORLEY-LAWSON DA, 2014; SKALSKY RL, et al., 2012)

O ciclo viral do HVSK regulado pelo miRNA-K3 tem como alvo o fator nuclear I/B, influenciando diretamente a expressão de RTA, ou pelo receptor quinase 2 acoplado a proteína G (GRK2) aumentando a latência, enquanto o miRNA-K6-3p pode regular a via STAT3 induzindo angiogênese aumentada, levando a migração celular e invasão de células infectadas (LU C-C, et al., 2010; LI W, et al., 2016a; LI W, et al., 2016b).

O miRNA-29a do vírus da hepatite B (VHB) direciona a via alvo PTEN e ativação AKT, além da proteína relacionada a cadeia do MHC I (MICA) ou MICB, cuja a expressão diminuída resulta em uma atividade limitada de células NK, sendo que a redução da expressão do miRNA-122 do VHB regula positivamente a ciclina G1 atenuando a atividade p53, aumentando a replicação do VHB (WU J, et al., 2014; OURA K, et al., 2020).

Vários estudos caracterizaram os perfis de expressão de miRNAs em linhagens celulares transformadas por HTLV-1 em pacientes com LTA, os miRNA-93 e miRNA-130b visam a região *downstream* da proteína supressora de tumor TP53INP1, impactando na proliferação de células transformadas, a expressão dos miRNAs pode ser influenciada pela proteína oncoviral HBZ, que ativa o miRNA-17 e miRNA-21 em linfócitos TCD4, esses miRNAs tem como alvo o fator de dano ao DNA OBFC2A, assim promovem a proliferação celular e instabilidade genômica (VOJTECHOVA Z e TACHEZY R, 2018).

### Alvos celulares de miRNAs virais

Os membros de miRNAs da família Let 7 estão relacionados a maioria das infecções virais, esse miRNAs afetam a expressão de células TCD8 efectoras, que podem liberar citocinas e eliminar células alvo infectadas, o Let 7 também é capaz de regular o fator de transcrição PLZF, que afeta a diferenciação e funções efectoras de células NK, dessa forma quando reprimido, o PLZF pode controlar o desenvolvimento celular do timo, ativação de células B e produção de anticorpos que são marcas registradas de vírus oncogênicos em pacientes com depleção imunológica (LETAFATI A, et al., 2022).

Outros reguladores de TLRs incluem os miRNA-200, miRNA-200a, miRNA-200b e miRNA-200c. A resposta primária de diferenciação mielóide 88 (MYD88) é uma proteína adaptadora citosólica que desempenha um papel central na resposta imune inata e adaptativa, os miRNA-200b/c interrompem a sinalização TLRs direcionando diretamente à *downstream* de MYD88, que é um transdutor de sinal da via IL1R/TLR (WENDLANDT EB, et al., 2012; ESSANDOH K e FAN G-C, 2013).

Os miRNAs regulados por vírus têm sido implicados em vias de autofagia, apoptose ou morte celular programada após o desprendimento celular da matriz extracelular correta, interrompendo assim a ligação da integrina (chamado de anoikis). Várias moléculas membros da família BECN1, estão envolvidas tanto na apoptose quanto na autofagia, enquanto a ativação anoikis leva a morte celular semelhante a apoptose, o miRNA-21 regulado por vírus pode afetar tanto a apoptose quanto anoikis regulando através da modulação dos genes alvos PDCD4, PTEN, IL-12, Maspin e Fas-L (NAHAND JS, et al., 2021). Foi descrito o envolvimento de múltiplos miRNAs no processo, por meio da regulação da expressão de genes ou vias de sinalização relacionadas a autofagia como BECLIN 1 e AMPK-mTOR em infecções (YIN Q, et al., 2018).

### **Padrões de expressão de miRNAs**

Os miRNAs codificados por vírus podem ser agrupados em duas classes (i) aqueles que são análogos ao miRNA do hospedeiro e (ii) aqueles que são específicos do vírus. Os miRNAs virais que imitam os efetores do hospedeiro são chamados de análogos, estima-se que 60% da regulação por um determinado miRNA é devido a ligação complementar com o transcrito alvo, uma fração de miRNAs codificados por vírus compartilha homologia com miRNAs hospedeiro em pelo menos três vírus como HVSK, Vírus da doença de Marek 1 (MDV1) e vírus da leucemia bovina (BLV) (KINCAID RP e SULLIVAN CS, 2012).

Em geral, a latência viral é a fase em que a maioria dos miRNAs virais é transcrita, servindo como estratégia de evasão imune, a ocorrência de cânceres causados pelos oncovírus parecem ter como alvo principal a via p53 para esses vírus mediar um processo oncogênico (GALLO A, et al., 2020) Evidências também sugerem que além de alterações genéticas devido a infecções o perfil dos miRNAs pode levar a uma metilação aumentada do DNA e repressão de genes supressores de tumor CDH1, p14, p15, p16 e p73. Outra característica é que essas moléculas reprimem proteínas pró-apoptóticas como modulador de apoptose (PUMA), mediador de morte celular (BIM) interagindo com Bcl-2 e translocase de membrana mitocondrial externa 22 homólogo (TOMM22) (GIUDICE A, et al., 2016).

Até o momento os alvos de mRNAs virais mais caracterizados são do HVSK, visando THBS1 com função de inibir a angiogênese e crescimento celular, pela ativação TGF $\beta$ , onde os tumores associados a esse herpesvírus exibem atividade reduzida de THBS1, os genes SPP1, S100A2, ITM2A e PRG1 também são superregulados por miRNAs na infecção pelo HVSK (SAMOLS MA, 2007). Outro mecanismo pelo qual eles podem afetar a transcrição é o silenciamento gênico por modificação de histonas ou metilação de elementos promotores, o escopo das funções dessas moléculas se tornou muito amplo, onde a biogênese de miRNAs pode ser regulada por vários mecanismos (SAMIR M, et al., 2016).

### **MiRNAs como biomarcadores na infecção viral**

A detecção, predição e prognóstico é particularmente desafiadora devido a heterogeneidade de infecções ou coinfeções e a falta de biomarcadores traduzidos com alto significado clínico, poderia melhorar a qualidade de vida do paciente e as abordagens terapêuticas. Os pesquisadores planejam explorar assinaturas de miRNAs de várias amostras de pacientes com infecções por oncovírus e correlacionar com o diagnóstico e progressão da doença (THOMAIDOU AC, et al., 2022).

Na busca por novos biomarcadores, muitas classes diferentes de moléculas têm sido estudadas desempenhando papel essencial na regulação pós-transcricional, sendo potenciais biomarcadores de infecções, em alguns estudos mudanças no perfil de expressão foram observadas no início da doença antes que o patógeno pudesse ser detectado diretamente e antes do início da soroconversão, o que pode ser fundamental na detecção precoce da doença e limitar a progressão de infecções (TRIBOLET L, et al., 2020).

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Além de codificar miRNAs, os vírus também podem desregular miRNAs celulares para facilitar a infecção, os achados reforçam que as interações de miRNAs virais com o mRNA são mais complexas que o simples pareamento de bases, desregulando diversas vias associadas ao sistema imunológico como RIGI, IFN, NF- $\kappa$ B, PI3K/Akt, MICB e TP53. A importância dessas moléculas virais durante a infecção vem da sua capacidade

de modificar o ambiente celular de forma não imunogênica, as aplicações clínicas são extremamente importantes, pois a inibição direcionada dos miRNAs pode ter impacto terapêutico substancial, mas ainda existem limitações no uso de miRNAs como no caso do custo técnico e onipresença dessas moléculas na circulação sanguínea demandando pesquisas para compreender sua origem tecidual.

## REFERÊNCIAS

1. AFSHARI A, et al. Inter-regulatory role of microRNAs in interaction between viruses and stem cell. *World Journal of Stem Cells*, 2021; 13(8): 985-1004.
2. ANDROULIDAKI A, et al. The Kinase Akt1 control macrophage response to lipopolisaccharide by Regulating MicroRNAs. *Immunity*, 2009; 31(2): 220-231.
3. BARBU MG, et al. MicroRNAs Involvement in Signaling Pathways During Viral Infection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020; 8: 143.
4. BERNIER A e SAGAN SM. The Diverse Roles of microRNAs at the Host-Virus Interface. *Viruses*, 2018; 10(8): 440.
5. BOUZAR AB e WILLEMS L. How HTLV-1 may subvert miRNAs for persistence and transformation. *Retrovirology*, 2008; 5: 101.
6. BRDOVČAK MC, et al. Herpes Simplex Virus 1 Dereglulation of Host MicroRNAs. *Noncoding RNA*, 2018; 4(4): 33.
7. CAI W, et al. Regulatory Role of Host MicroRNAs in Flaviviruses Infection. *Frontiers in Microbiology*, 2022; 13: 869441.
8. ESSANDOH K e FAN G-C. Role of extracellular and intracellular microRNAs in sepsis. *Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 2013; 1842(11): 2155-2162.
9. GALLO A, et al. Viral miRNAs as Active Players and Participants in Tumorigenesis. *Cancers*, 2020; 12(2): 358.
10. GIUDICE A, et al. Role of Viral miRNA and Epigenetic Modifications in Epstein-Barr Virus-Associated Gastric Carcinogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016; 2016 :6021934.
11. GRUNDHOFF A e SULLIVAN CS. Virus-encoded microRNAs. *Virology*, 2011; 411(2): 325-343.
12. KINCAID RP e SULLIVAN CS. Virus-Encoded microRNAs: An Overview and a Look to the Future. *PLoS Pathogens*, 2012; 8(12): e1003018.
13. LEE I, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Genome Research*, 2009; 19: 1175-1183.
14. LETAFATI A, et al. Micro let-7 and viral infections: focus on mechanisms of action. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2022; 27: 14.
15. LI H, et al. MicroRNA-mediated interactions between host and hepatitis C virus. *World Journal of Gastroenterology*, 2016; 22(4):1487-1496.
16. LI W, et al. A KSHV microRNA enhances viral latency and induces angiogenesis by targeting GRK2 to activate the CXCR2/AKT pathway. *Oncotarget*, 2016a; 7(22): 32286-32305.
17. LI W, et al. The SH3BGR/STAT3 Pathway Regulates Cell Migration and Angiogenesis Induced by a Gammaherpesvirus MicroRNA. *PLoS Pathogens*, 2016b; 12(4): e1005605.
18. LIZASA H, et al. Role of Viral and Host microRNAs in Immune Regulation of Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. *Frontiers in Immunology*, 2020; 11: 367.
19. Lu C-C, et al. MicroRNAs encoded by Kaposi's sarcoma - associated herpesvirus regulate viral life cycle. *EMBO Reports*, 2010; 11(10): 784-790.
20. MA X, et al. MicroRNAs in NK-kB in signaling. *Journal of Molecular Cell Biology*, 2011; 3(3): 159-166.
21. MAKKOCH J, et al. Human microRNAs profiling in response to influenza A viruses (subtypes pH1N1, H3N2, and H5N1). *Experimental Biology and Medicine*, 2016; 241(4): 409-420.
22. MOLES R, et al. STAT1: A Novel Target of miR-150 and miR-223 Is Involved in the Proliferation of HTLV-I-Transformed and ATL Cells. *Neoplasia*, 2015; 17(5): 449-462.

23. MURER A, et al. MicroRNAs of Epstein-Barr Virus Attenuate T-Cell-Mediated Immune Control *In Vivo*. *mBio*, 2019; 10(1): e01941-18.
24. NAHAND JS, et al. Cell death pathways and viruses: Role of microRNAs. *Molecular Therapy Nucleic Acids*, 2021; 24: 487-511.
25. OURA K, et al. Molecular and Functional Roles of MicroRNAs in the Progression of Hepatocellular Carcinoma - A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020; 21(21): 8362.
26. PIEDADE D e AZEVEDO-PEREIRA JM. The Role of microRNAs in the Pathogenesis of Herpesvirus Infection. *Viruses*, 2016; 8(6):1-32.
27. QIAO J, et al. HIV-1 Vpr protein upregulated microRNA-210-5p expression to induce G2 arrest by targeting TGIF2. *PLoS One*, 2021; 16(12): e0261971.
28. QIN J, et al. KSHV microRNAs: Tricks of the Devil. *Trends in Microbiology*, 2017; 25(8): 648-661.
29. QIU J e THORLEY-LAWSON DA. EBV microRNA BART 18-5p targets MAP3K2 to facilitate persistence in vivo by inhibiting viral replication in B cells. *PNAS*, 2014; 111(30): 11157-11162.
30. SAMIR M, et al. MicroRNAs in the Host Response to Viral Infections of Veterinary Importance. *Frontiers in Veterinary Sciences*, 2016; 3: 86.
31. SKALSKY RL e CULLEN BR. Viruses, microRNAs, and Host Interactions. *Annual Reviews of Microbiology*, 2010; 64: 123-141.
32. SKALSKY RL, et al. The Viral and Cellular MicroRNA Targetome in Lymphoblastoid Cell Lines. *PLoS Pathogens*, 2012; 8(1): e1002484.
33. THOMAIDOU AC, et al. Promising Biomarkers in Head and Neck Cancer: The Most Clinically Important miRNAs. *International Journal Molecular Sciences*, 2022; 23(15): 8257.
34. TRIBOLET L, et al. MicroRNA Biomarkers for Infectious Diseases: From Basic Research to Biosensing. *Frontiers in Microbiology*, 2020; 11:1197.
35. VOJTECHOVA Z e TACHEZY R. The Role of miRNAs in Virus-Mediated Oncogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018; 19(4):1217.
36. WENDLANDT EB, et al. The role of microRNAs miR-200b and miR-200c in TLR4 signaling and NF- $\kappa$ B activation. *Innate Immunity*, 2012; 18(6):846-855.
37. WU J, et al. Hepatitis B surfaces antigen inhibits MICA and expression via induction of cellular miRNAs in hepatocellular carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 2014; 35(2): 155-163.
38. WU W, et al. MicroRNA let-7 Suppresses Influenza A Virus Infection by Targeting RPS16 and Enhancing Type I Interferon Response. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022; 12: 904775.
39. YIN Q, et al. Regulatory effects of lncRNAs and miRNAs on autophagy in malignant tumorigenesis. *Bioscience Reports*, 2018; 38(5): BSR20180516.
40. ZHANG L, et al. MicroRNAs expressed by human cytomegalovirus. *Virology Journal*, 2020; 17:34.