



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSIQUIATRIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA USP
PROGRAMA INTERUNIDADES DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOINFORMÁTICA

RAYSSA MARIA DE MELO WANDERLEY FEITOSA

**Comparação de redes de microRNAs placentários de primíparas
submetidas a intervenção psicossocial**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Durante o desenvolvimento deste trabalho a autora recebeu auxílio financeiro do CNPq (Processo 134205/2019-7) e da FAPESP (Processo #2018/18560-6)

São Paulo

2022

Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa

**Comparação de redes de microRNAs de primigestas submetidas a
intervenção psicossocial**

Versão Corrigida

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa Interunidades de Pós-Graduação em
Bionformática da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Bioinformática

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Helena Brentani

Co-Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ariane Machado Lima

São Paulo

2022

*Dedico este trabalho a Deus, ao futuro da ciência
e a pesquisa com miRNAs e psicobiologia.*

Agradecimentos

À minha orientadora Profa Dra Helena Brentani que me direcionou, sempre muito paciente e presente quando preciso, e que me ajudou a realmente entender o método científico e enfatizar o valor da ciência pela contribuição à sociedade e não como uma competição ou apenas uma formação, sempre compartilhando conhecimento e suas brilhantes e criativas ideias. À minha co-orientadora profa Dra Ariane Machado que sempre presente, me auxiliou bastante no mundo da programação e esteve comigo semanalmente, ensinando e pensando junto, além dos aprendizados de vida que a mesma têm proporcionado. Gratidão por ter tido a oportunidade de trabalhar com cientistas tão queridas, inteligentes, incríveis e humanas, que foram não só orientadoras mas exemplos e inspiração. Ainda as considero minhas “mães” na ciência que não só me conduziram, mas acreditaram (e acreditam) em mim, e toda a paciência para explicar as coisas até que seus alunos entendam. Ambas me ajudaram a abrir meu coração ainda mais para a ciência e a área acadêmica.

Agradeço também a todo patrocínio e auxílio financeiro da FAPESP (processos #2018/18560-6 e #2020/01992-0) para a realização do projeto primeiros laços e coleta de amostras, e minha bolsa integral de mestrado do CNPQ (processo nº 134205/2019-7) que auxiliou minha estadia em São Paulo.

Ao programa de bioinformática, que possui um curso de verão, organizado pelos discentes (como eu conheci o programa e decidi me inscrever), e facilita o ingresso de estudantes de todo Brasil, sem a necessidade de viajar para prestar a prova de ingresso. Assim, agradeço também aos alunos que organizaram o curso de verão que eu participei (2018) e os que organizaram junto comigo os cursos de 2020 e 2021.

Ademais aos meus queridos colegas de laboratório durante o mestrado que pensaram comigo, me ajudaram e contribuíram com o desenvolvimento da minha pesquisa. Em especial ao Arthur, Carol, Vinicius, Leonardo, Victor, André e principalmente a pós-doutoranda Gisele Gouveia que me ajudou e acolheu principalmente durante a pandemia, sempre extremamente responsável e gentil, e esteve comigo durante todo meu tempo no IPq, sendo a responsável pela parte experimental do meu projeto e todo o planejamento do mesmo, se tornando uma grande amiga (e também exemplo) que pretendo levar pra vida.

Também a todos os amigos que fiz em São Paulo e que pretendo levar pra vida, que nunca hesitaram em me ajudar em o que podiam, não só com meu projeto mas na minha

estadia em São Paulo, fazendo-a muito mais agradável, em especial a Mariana, Isabela, Roberta, Raissa e Rafael e Lays (que já conhecia de Recife mas me aproximei em SP). Também aos meus tios que moram em São Paulo, Lourdinha Abreu e Orlando Peccilli, que foram de um suporte imensurável para minha adaptação e estadia desde antes do início do meu mestrado. Palavras não são suficientes para agradecer-los, concluí este trabalho também graças a vocês. Ainda a minha família que mora em São Paulo que eu não conhecia (ou não lembrava) e tive a oportunidade de não só conhecer, mas me aproximar e fazer laços pra vida!

Ainda, agradeço a toda minha família e amigos, que mesmo de longe estiveram por perto, alguns me visitaram em São Paulo, outros sempre se mostraram presentes por redes sociais e torceram carinhosamente pelo meu sucesso. Alguns ainda me ajudaram com coisas específicas do projeto e indicando fontes de estudo e dando dicas profissionais, como meu tio Luiz Tavares de Melo, e meus primos (Tássia Tavares de Melo e Raphael (seu noivo)), e amigos como Rodrigo Adamski, Stefany Vasconcelos e Isabela Almeida. E principalmente a meus pais e em especial a minha querida mãe que tem sido meu maior suporte para que eu siga meus sonhos desde o início da minha vida. Ela e meu pai sempre fizeram o melhor para não permitir que nada me falte ou impeça que eu siga meu coração. Meu amor por vocês é imensurável.

E por fim, e mais importante, à Deus e todas as sincronicidades do universo que me permitiram trabalhar com e conhecer todas essas pessoas tão maravilhosas, brilhantes e inspiradoras, além de todos os aprendizados e direcionamentos pra vida obtidos neste período! Gratidão infinita.

Resumo

A exposição a estressores psicológicos e sociais, durante as fases iniciais do desenvolvimento humano, principalmente na gestação, está associada a um aumento significativo do risco da prole desenvolver vários problemas, incluindo alterações da cognição, reatividade emocional, dificuldades em sociabilização e aumento do risco para transtornos mentais. Assim, intervenções psicossociais no período gestacional têm apresentando um impacto positivo em desfechos neonatais e que perduram na vida. Entretanto, pouco se conhece sobre os possíveis mediadores biológicos da intervenção. Conseqüentemente, há uma grande relevância e interesse científico de compreender os mecanismos moleculares e epigenéticos que mediam a relação entre exposições ambientais, desfechos de neurodesenvolvimento e intervenções terapêuticas. Entre estes, microRNAs (miRNAs) parecem ter um papel relevante. Existem ferramentas disponíveis para buscar diferenças de expressão gênica, criação e comparações de redes microRNA-alvo, no entanto, as mesmas não consideram evolução temporal e para diminuir o espaço de busca dos alvos precisam de dados de diferença de expressão de mRNA além dos de miRNA. O presente trabalho, é parte de estudo clínico duplo cego e randomizado de intervenção psicossocial para primigestas em situação de vulnerabilidade, que tem como objetivo investigar a diferença de expressão de miRNAs placentários e comparar redes biológicas de miRNA-mRNA, porém sem dados experimentais de expressão de mRNA. Considerando que existem evidências para ação de correção de miRNA em alvos formando módulos, e certa especificidade tecidual para ação destes módulos, criamos um novo método para a comparação de módulos de correção miRNAs-mRNA, criados a partir de dados experimentais de miRNAs diferencialmente expressos entre dois momentos durante a gestação (8-16 semanas e 30 semanas) para dois grupos (caso e controle) e genes placentários, utilizando programas escritos em C++ e Python. Diferentemente do que se encontra até o momento na literatura, o método criado consegue identificar módulos de correção tecido-específicos miRNA-mRNA presentes apenas em casos ou em controles mesmo com diferenças sutis na expressão de miRNAs para casos e controles, podendo ser usado para diversas situações.

Palavras-chave: redes bipartidas. módulos de microRNA. pré-natal. gestação. intervenção psicossocial

Abstract

The exposure to environmental risk factors such as psychological and social stressors during the initial phases of human development, especially in the gestational period, is associated with a significant increase in the offspring's risk of developing various adversities, including cognition problems, emotional reactivity, impaired sociability and psychiatric disorders. Considering this, psychosocial interventions during gestation have shown a positive impact for neonatal outcomes which can last a lifetime. However, there is a lack of knowledge on possible biological markers of intervention. Consequently, there is great relevance and scientific interest in understanding the molecular and epigenetic mechanisms that mediate the relationship between environmental exposures, neurodevelopmental outcomes and therapeutic interventions. Among these mechanisms, miRNAs seem to have an important role. There are available tools to search for gene expression differences, creation and comparison of miRNA-target networks. Notwithstanding, these tools do not consider time evolution, and to reduce the target search space, they need expression data not only for miRNAs but also mRNA. This work is part of a randomized, double-blinded clinical trial on psychosocial intervention for primigravidae in socio-economic vulnerability that has the goal to investigate placental miRNA differential expression and compare biological networks miRNA-mRNA without mRNA experimental expression data. Considering that there is evidence for miRNA forming coregulation modules with targets, and a certain tissue specificity for the action of these modules, we created a new method for the comparison of miRNA-mRNA coregulation modules. The modules were created from differentially expressed miRNA data between two gestational periods (8-16 weeks and 30 weeks) for two groups (cases and controls), and placental genes, using two computer programs written in Python and C++. Differently from what we have seen so far in the literature, the method created is able to identify tissue-specific coregulation miRNA-mRNA modules present only in case or only in controls, even though there was subtle miRNA expression difference for the groups.

Key words: bipartite networks. microRNA modules. prenatal. gestation. psychosocial intervention.

Lista de Ilustrações

Figura 1 - Vias de biogênese dos miRNAs.....	18
Figura 2 - Representação das <i>seeds</i> que caracterizam as ligações canônicas entre o miRNA-mRNA.....	21
Figura 3 - Cooperatividade dos miRNAs.....	22
Figura 4 - Diagrama de Venn representando a expressão de miRNAs na placenta e/ou sangue materno circulante (soro ou plasma) durante o primeiro e/ou terceiro trimestre de gestação.....	23
Figura 5 - Expressão diferencial de miRNAs em complicações gestacionais para placenta, plasma e/ou soro.....	25
Figura 6 - Exemplo de rede bipartita miRNA-mRNA. As setas representam a direção da interação, na qual um miRNA regula o mRNA.....	31
Figura 7: Esquema da proposta do estudo.....	36
Figura 8 - Fluxograma da metodologia completa.....	38
Figura 9 - Representação das lâminas utilizadas para análise de expressão de miRNAs.....	41
Figura 10 - Fluxograma de seleção dos miRNAs para a construção da placa.	43
Figura 11 - Esquema do funcionamento do algoritmo de seleção dos módulos de correção.....	47
Figura 12 - Gráfico mostrando a relação de quantidade de módulos (saída) e interações	

(entrada) para cada miRNA que modulariza.....	54
Figura 13 - Gráficos da mesma relação entre a quantidade de módulos como saída do programa e número de interações de cada miRNA em números absolutos (a) e em power law (b).....	55
Figura 14 - Esquema representando a saída do algoritmo em Python.....	57
Figura 15 - Representação de um módulo em uma rede com todos os alvos dos miRNAs presentes no módulo.....	58
Figura 16 - Utilizando apenas os miRNAs DEs nos dois tempos, o esquema representa os dados teste de miRNA diferentes na entrada e a quantidade de módulos na saída.....	60
Figura 17 - Curva que descreve para módulos redundantes e não redundantes a porcentagem dos módulos na saída que contém pelo menos três miRNAs DE e dois genes placentários para cada simulação com as entradas testes (2, 4, 8, 16 e 32).....	61
Figura 18 - Gráfico de linhas comparando a quantidade de módulos de casos versus controle da saída.....	62
Figura 19 - Gráfico de vias.....	63
Figura 20 - Gráfico que mostra a interseção de genes entre diferentes vias.....	64

Lista de quadros e tabelas

Quadro 1 - Arquivos de entrada do algoritmo criado em python para seleção dos módulos placentários.....	48
Quadro 2 - Caracterização das amostras no baseline.....	52
Quadro 3 - Quadro com as nove saídas do programa criado em Python.....	57
Tabela 1 - Quantidade de módulos gerados pelo programa em C++ e Python.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMI - Índice de Massa Corpórea (do inglês *Body Mass Index*)

HOME - do inglês *Home Observation for measurement of the Environment*

WHO VAW - do inglês *World Health Organization Violence Against Women*

CIDI 2.1 - do inglês *Composite International Diagnostic Interview*

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (do inglês *Polymerase Chain Reaction*)

RQ - Quantificação Relativa (do inglês *relative quantification*)

DE - Diferencialmente Expressos

T0 - Tempo zero (entre 8 e 16 semanas de gestação)

T1 - Tempo um (30 semanas de gestação)

KEGG - Base de dados de vias biológicas. Do inglês *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*

GO - Base de dados de processos biológicos, componente celular e vias moleculares. Do inglês *Gene Ontology*

LISTA DE SÍMBOLOS

Δ - Delta

Δ_{ct} - Delta Ct ou Delta do limiar do ciclo (do inglês Cycle threshold)

% - porcentagem

Sumário

Capítulo 1. Introdução	13
1.1. Origem Desenvolvimentista da Saúde, do Comportamento e da Doença (DOHaD) e o desenvolvimento de estudos de intervenção durante a gestação - projeto "Primeiros Laços".	14
1.2. A placenta e mecanismos epigenéticos como os responsáveis pela mediação da resposta à exposição ao estresse ambiental: foco em miRNAs.	16
1.2.1. MiRNAs e gestação	18
Capítulo 2. Maneiras de estudar e analisar miRNAs	27
2.1. MiRNAs como biomarcadores e expressão diferencial em duas situações	27
2.2. Identificação de miRNAs tecido-específicos	28
2.3. Identificação e/ou predição de alvos e criação de redes	29
2.4. Análise de redes de miRNAs	30
2.4.1. Criação de Redes Bipartidas	30
2.4.2. Análises de uma ou mais redes gênicas miRNA-mRNA e módulos de correção	31
3. Justificativa e Hipótese	33
4. Objetivos	37
4.1. Objetivos Gerais:	37
4.2. Objetivos específicos:	37
5. Material e métodos	38
5.1. Casuística	39
5.2. Extração do miRNAs placentários do plasma e síntese de cDNA	40
5.3. Seleção do microRNAs para a lâmina de análises de expressão diferencial	41
5.4. RT-qPCR para diferença de expressão dos microRNAs	44
5.5. Problemas técnicos que atrasaram os experimentos	44
5.6. Criação da rede e módulos de interação miRNA-mRNA	45
5.5.1. Programas para criação dos módulos maximais de correção	45
5.6.2. Seleção dos módulos placentários de regulação	47
5.7. Análises e Comparação dos módulos	50
5.7.1. Enriquecimento de vias e processos biológicos	51
6. Resultados	52
6.1. Caracterização da amostra coletada	52
6.2. Módulos de correção miRNA-mRNA	52
6.2.1. Seleção dos módulos placentários	56
6.2.2. Módulos diferentes	59
6.2.3. Enriquecimento dos módulos diferentes	62

7. Discussão	65
8. Conclusão	68
9. Referências	69
10. Anexos e Apêndices	82
10.1. Anexos	82
10.2. Apêndices	96

Capítulo 1. Introdução

1.1. Origem Desenvolvimentista da Saúde, do Comportamento e da Doença (DOHaD) e o desenvolvimento de estudos de intervenção durante a gestação - projeto "Primeiros Laços".

Considerando a plasticidade do desenvolvimento durante a gestação, em que a associação genótipo-fenótipo é variável e dependente da exposição ao ambiente, Barker e cols. apresentaram estudos epidemiológicos que foram divisores de águas para compreensão da importância da programação de órgãos e tecidos mediante exposições ambientais (Barker, 1999). As evidências da importância dos períodos críticos do desenvolvimento humano deram origem ao ramo da ciência denominado Origem Desenvolvimentista da Saúde, do Comportamento e da Doença (do inglês *Developmental Origins of Health and Disease* - DOHaD).

Por conseguinte, há um corpo robusto de evidências que permite reconhecer que o desenvolvimento do feto é mediado tanto por um componente genético, como também por influências ambientais. Ainda, a disparidade entre o ambiente esperado dadas as condições intraútero e aquele que é encontrado após o nascimento pode levar a respostas mal adaptativas, comprometendo a manutenção da homeostase individual, e acarretando doenças ao longo da vida. Dentre as exposições ambientais estressoras descritas, o estresse psicossocial e os consequentes níveis elevados de glicocorticóides, no início do desenvolvimento humano podem impactar a saúde da prole a longo prazo (Gluckman et al., 2008; Seco e Matias, 2009; Liu et al., 2017).

Há evidências de que, cuidados insuficientes de saúde, desnutrição, estimulação inadequada e outros estressores ambientais nos primeiros 1000 dias de vida se mostra desfavorável ao neurodesenvolvimento e aumentam também a chance de que o potencial sócio-cognitivo individual não seja alcançado ao longo da vida (Fox et al., 2010; Kieling et al., 2011). Neste sentido, o período gestacional é fundamental, pois é o período que apresenta maior taxa e velocidade de crescimento, principalmente para o sistema nervoso central.

Populações socioeconomicamente vulneráveis são as quais encontramos cuidados insuficientes de saúde e as mais expostas ao estresse ambiental em geral, o que durante a

gestação, comprovadamente afeta o cardiometabolismo, sistema neuroendócrino e funções cognitivas do feto como resultado do excesso de glicocorticóides (hormônio mediador do estresse) durante o desenvolvimento (Kajantie et al., 2002). Assim, o estresse materno pode desencadear uma hiperresponsividade ao estresse na prole em várias espécies, aumentando a produção global de glicocorticóides após a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e também as respostas ao estresse comportamental. Simultaneamente, podem-se observar déficits cognitivos e endofenótipos associados a transtornos psiquiátricos (Bergman et al., 2010; Harris e Seckl, 2011; O'Donnell et al., 2014).

Ademais, o estresse pré-natal também tem forte associação com o baixo peso ao nascer (Lima et al., 2018). Concomitantemente, recém-nascidos de muito baixo peso (<1.500 g) apresentam maior risco para deficiências cognitivas (Pearson et al., 2016), dificuldade de aprendizado, problemas de linguagem e alterações neurossensoriais (Reijneveld et al., 2006). Medidas volumétricas de regiões do cérebro de bebês prematuros revelam volumes desproporcionalmente menores do córtex sensório-motor, da amígdala, do hipocampo e dos gânglios basais, além de desenvolvimento prejudicado em outras áreas, associado a habilidades cognitivas comprometidas, problemas comportamentais e maior risco para o TDAH (Transtorno de Déficit de Atenção com Hiperatividade) e Transtornos do Espectro Autista (Woodward et al., 2009; Vohr, 2014; Pyhälä et al., 2014; Fink et al., 2018).

Em prol de proteger o cérebro em desenvolvimento, intervenções para melhorar o cuidado pré-natal dessas mães em situação de vulnerabilidade socioeconômica apresentam uma estratégia promissora e até necessária (Shonkoff, 2010; Shonkoff et al., 2012). Estudos de intervenção psicológica ou psicossocial durante a gestação ou no primeiro ano de vida, realizados em alguns países, mostram redução nos problemas durante o parto (East et al., 2019, Sukhato et al., 2014), e ainda, de comportamento dos filhos como diminuição de comportamentos antissociais graves e de abuso de substâncias durante os primeiros 15 anos de vida, além de indicar diminuição de abuso e negligência por parte dos pais (Atif et al., 2020; Mathibe-Neke e Masitenyane, 2018; Eckenrode et al., 2010). Esses estudos focam na relação mãe-bebê e alternativas de cuidados para cada realidade encontrada.

Neste contexto, a Universidade de São Paulo (USP) em parceria com outras instituições nacionais e internacionais criou o “Programa de Visitação para Jovens Gestantes”, que é parte do *Projeto Primeiros Laços*. Este programa tem o objetivo promover

o desenvolvimento saudável intrauterino e do bebê nos dois primeiros anos de vida, em primigestas jovens (14 a 20 anos), e em situação de vulnerabilidade socioeconômica, a partir de visitas semanais e quinzenais de enfermeiras treinadas por psicólogas, sendo baseado nos programas *Janela de Oportunidades* (Chiesa et al., 2009; Martins et al., 2008), *Minding the Baby* (Sadler et al., 2013) e *NFP* (Olds, 2006).

Estas visitas visam a abordar aspectos relacionados ao cuidado da saúde, saúde ambiental, desenvolvimento do curso de vida e da parentalidade, vínculo mãe-bebê e desenvolvimento social e cognitivo da criança (Fracolli et al., 2016). O desenho do estudo foi um ensaio clínico randomizado. Foram realizadas avaliações sobre exposição a estressores com 8-16 semanas de gestação, com 30 semanas de gestação, aos 12 e 24 meses do bebê após o nascimento, além da coleta de amostras biológicas dessas mães e bebês para a busca de evidências biológicas desta intervenção psicossocial realizada nestes períodos. Mais informações sobre o “Primeiros laços” e as intervenções podem ser encontradas em Sadler et al., 2013, Pinheiro et al., 2018, Francolli et al., 2018, Siqueira et al., 2020.

1.2. A placenta e mecanismos epigenéticos como os responsáveis pela mediação da resposta à exposição ao estresse ambiental: foco em miRNAs.

Durante a gestação, a placenta é o órgão que além de sustentar a gravidez, realiza a comunicação materno-fetal chamada *maternal-fetal crosstalk*. Esse *crosstalk* acontece principalmente por meio de hormônios, citocinas e ácidos nucleicos, às vezes carregados por vesículas extracelulares. Nosso grupo publicou um trabalho que mediu cortisol capilar materno durante a gestação e do bebê ao longo do primeiro ano de vida e evidenciou uma associação entre os níveis maternos e da criança, mostrando o importante papel da programação fetal (Liu et al, 2017). Além do cortisol, outros hormônios, como a ocitocina, influenciam a formação e desenvolvimento do cérebro fetal por meio da programação fetal, evidenciando a atividade desses hormônios para a execução adequada do programa placentário, assim como para potencialidades relacionadas à sociabilidade (apego) e aprendizado (Sandman et al., 2011; Khalife et al., 2012).

O genoma é composto pela sequência de DNA do organismo. Em contrapartida, o epigenoma se constitui de um conjunto de marcas químicas e moléculas que sobrepõem o genoma e interagem com ele. Mais especificamente, este epigenoma é formado por marcas e moléculas extremamente responsivas ao ambiente e respostas fisiológicas que podem ser alteradas durante o período de uma vida. São elas: metilações do DNA; RNAs não codificantes (ncRNAs) interagindo com o RNA mensageiro (mRNA) ou o DNA; e modificação das histonas, proteínas que interagem diretamente com o DNA (Weinhold, 2006).

As alterações epigenéticas são consideradas mediadores entre a exposição a fatores ambientais e os desfechos neonatais (Bale, 2015; Babenkoab et al., 2015). Alterações epigenéticas se referem a modificações no epigenoma que interferem na regulação da expressão gênica e que não causa alteração na sequência de bases do DNA mas mesmo assim, podem ser herdadas (Jablonka e Lamb, 2002). São exemplos de alterações epigenéticas: modificações do padrão de metilação do DNA; modificações químicas de histonas por processos conhecidos como acetilação, metilação, ubiquitinação, sumoilação e fosforilação; e alterações no padrão normal de expressão dos ncRNAs, os quais representam 95% do total de RNAs (Costa, 2010; Peschansky e Whalestedt, 2014).

Existem vários tipos de ncRNAs sendo o mais abundante o RNA ribossômico (rRNA) (80% do total de RNA no organismo) (O'Neil et al., 2013). Mas há também muitos outros tipos como: RNAs transportadores (tRNAs), responsáveis pelo transporte do aminoácido correto para a síntese de proteína; os pequenos RNAs nucleares e nucleolares (snRNAs e snoRNAs) participando do processamento do RNA e da síntese do rRNA respectivamente; os microRNAs (miRNAs), que agem principalmente inibindo a tradução; os RNAs longos não codificantes (lncRNAs) que são reguladores transcricionais e também pós-transcricionais; os RNAs esponja, que contém locais de ligação para outros microRNAs; entre outros (Pertea, 2012). Uma busca no portal PubMed evidencia que o microRNA é atualmente o ncRNA mais estudado, muito provavelmente por sua atividade de regular diretamente os mRNAs (Bartel, 2004).

1.2.1. MiRNAs e gestação

MicroRNAs são pequenas fitas de RNA de 19 a 26 nucleotídeos que participam da regulação gênica se ligando ao seu alvo, o qual é, na maioria das vezes, o RNA mensageiro (King e Borchert, 2017), reprimindo assim a tradução. Todavia, evidências atuais mostraram que estes pequenos RNAs não codificantes também podem parear com outros ncRNAs como lncRNAs, RNAs esponja e até ao DNA (Zhang, et al., 2018; Ebert e Sharp, 2010; Place, et al., 2008; Paugh, et al., 2016).

Em sua síntese, os miRNAs partem dos pri-microRNAs (primeiros precursores dos miRNAs em forma de grampo de cabelo ou “*hairpin*”), os quais são transcritos direto do DNA no núcleo da célula. Sabe-se hoje que existem cinco formas diferentes que o miRNA pode ser sintetizado (figura 1 - Ha e Kim, 2014), e dentre elas a mais comum é conhecida como via canônica. Nesta, o pri-microRNA é então processado por um complexo nuclear formado pela ribonuclease III, Drosha e seu cofator DGCR8, transformando-o em pre-microRNA (ainda *hairpin*). Este último sai do núcleo por meio do receptor nuclear dependente de RanGTP e é clivado no citoplasma pela proteína Dicer, transformando-se em um miRNA de fita dupla. Já no citoplasma essa fita dupla é separada em duas fitas simples, dando origem ao microRNA maduro e a sua sequência complementar, que ou é degradada ou é acoplado a proteínas também se tornando um miRNA reverso (e assim são formados os miRNAs “3p” e “5p”) (Ha e Kim, 2014, King e Borchert, 2017; Robertson et al., 2017). Durante este processo a proteína AGO é de grande importância para a estabilidade, transporte e atividade do microRNA (Wahid et al., 2010).

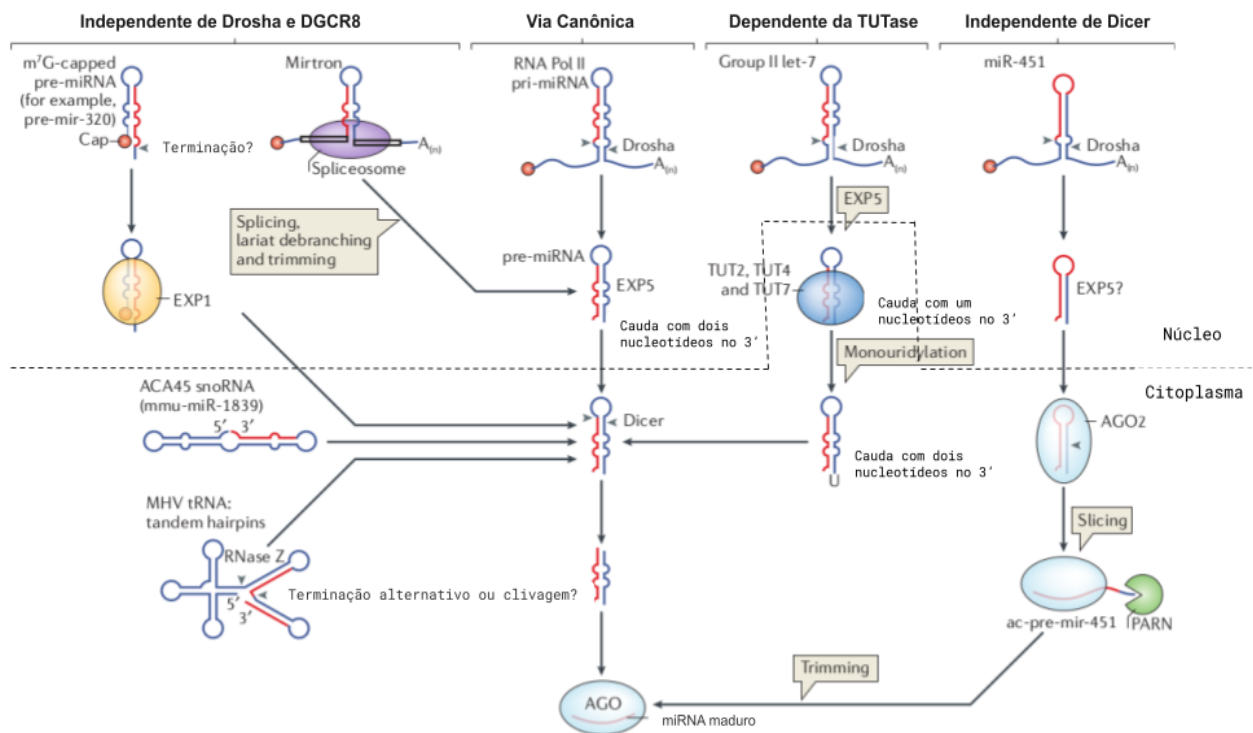


Figura 1: Vias de biogênese dos miRNAs. A imagem mostra a via canônica no centro, e alguns exemplos de vias não canônicas de produção de miRNAs. Na via canônica, os genes são transcritos pela RNA polimerase II (Pol II), gerando um pri-miRNA. Drosha, na região crítica da síndrome DiGeorge gene-8 (DiGeorge syndrome critical region gene-8 - DGCR-8), medeia o processo inicial que produz o pre-miRNA com ~65 nucleotídeos (nt). O pre-miRNA tem uma pequena cauda de 2–3 nt na extremidade 3', na qual a exportina 5 (EXP5) se liga e o transporta para o citoplasma. No citoplasma, RNase III Dicer catalisa o segundo processamento, gerando o miRNA/miRNA* duplex. Dicer e Argonauta 1–4 (Ago 1–4) são responsáveis pelo processamento do miRNA final. Acredita-se que uma helicase desconhecida separa o duplex. Nas vias não canônicas: O 7-methylguanosine (m7G)-capped pre-mir-320 é diretamente transcrito pulando o processamento pela Drosha, e é em seguida exportado para o citoplasma pela exportina 1 (EXP1). A via Mirtron loci produz pre-miRNAs diretamente pelo *splicing* e *debranching*. Alguns mirtrons contém caudas fita-simples 5' ou 3' de RNA que precisa ser trimmada antes do processamento pela Dicer. Alguns RNAs pequenos nucleolares (snoRNA), como o ACA45, e tRNAs (ou tRNA-like RNAs) podem também ser clivados para produzir pre-miRNAs. Na via dependente da Terminal uridylyl transferase (TUTase), pri-miRNAs produzem pre-miRNAs com uma cauda 3' mais curta, o que dificulta o processamento pela Dicer. Isso quer dizer que eles precisam ser monouridilados para o processamento eficiente da Dicer. Numa via independente de Dicer, um pequeno pre-mir-451 é produzido pela Drosha, exportado para o citoplasma (possivelmente pela EXP5) e acoplado a Argonauta 2 (AGO2) sem o processamento pela Dicer. AGO2 cliva ('fatia') o pre-mir-451, gerando o pre-mir-451 clivado pela AGO (*AGO-cleaved*) (ac-pre-mir-451), o qual é em seguida trimado pela exonuclease 3'–5' poly(A)-specific ribonuclease PARN. As interrogações indicam locais em que a ação descrita ainda não foi completamente confirmada. MHV, *murine γ-herpesvirus*; mmu, *Mus musculus*; Pol II, polimerase II.

Fontes: WAHID et al., 2010 e Ha e Kim, 2014, adaptada.

Os RNAs não codificantes estão presentes em todas as espécies e acredita-se que existam mais de 25 000 miRNAs diferentes em humanos, com 6 500 sequenciados até 2015 (Londin et al., 2015). Entretanto, de acordo com a miRBase (base de dados de anotações de nomes e sequências de miRNAs, incluindo suas versões *hairpin* e maduro para a maioria do anotados) apenas 2 693 miRNA maduros de humanos estão catalogados até o presente momento (Kozomara A et al., 2019).

O papel dos miRNAs é extremamente importante na regulação gênica de muitas espécies entre plantas e animais já que o mesmo regula diretamente a tradução de mRNAs, consequentemente regulando a produção de proteínas pelos organismos. Assim, perturbações em seu padrão de expressão estão associadas a inúmeros distúrbios (Robertson et al., 2017), dentre eles alterações do neurodesenvolvimento uma vez que essa regulação tem um importante papel no desenvolvimento do cérebro e na neurogênese (Sun e Shi, 2015).

Assim como a expressão gênica é tecido-específica, não é diferente para os miRNAs que regulam esses genes. Consequentemente, vários experimentos têm demonstrado grupos de miRNA expressos em tecidos, momentos e condições diferentes, o que pode ser encontrado em algumas bases de dados (HMDD (Huang et al., 2019), miRanda (John et al., 2004), miRmine (Panwar et al., 2017) e microRNA.org (Betel et al., 2008)). Durante a gravidez, por exemplo, há uma alteração fisiológica significativa na produção de vários miRNAs pelo organismo da gestante.

A regulação do mRNA pelo microRNA é geralmente negativa e provoca a degradação ou silenciamento do mRNA, já que a ausência do miRNA tende a aumentar seu mRNA alvo, e também em controvérsia a abundância de mRNAs pode também diluir a atividade de miRNAs e outros siRNAs (do inglês small interfering RNAs) (Arvey et al., 2010). Para que haja a regulação o miRNA se liga ao mRNA primeiramente por complementaridade de bases. Como esta complementaridade é imperfeita em animais, é necessária a presença de fatores que ajudam na estabilidade do duplex miRNA-mRNA como acessibilidade do alvo, a presença da AGO, termodinâmica da ligação que inclui energia livre e energia de desdobramento das estruturas envolvidas, formando o complexo *miRISC (RNA-Induced Silencing Complex)* (Nakanishi, 2016; Kertesz, et al. 2007).

Os miRNAs podem se ligar à região 3'UTR (considerada a mais frequente), CDS ou 5'UTR do mRNA. Basicamente, eles podem agir sozinhos ou em cooperação com outros ncRNAs, o que muitas vezes promove uma regulação mais rápida e efetiva, sendo alguns microRNAs dependentes de outros para a regulação, sugerindo uma cooperatividade essencial dos miRNAs em alguns casos (Hausser et al., 2013; Lee et al., 2008; Ørom et al., 2008; Denzler et al., 2016, Xu et al., 2013, Schmitz et al., 2014). Não obstante, estudos funcionais sugerem que miRNAs ajam sempre em sinergia (Chen et al., 2017; Denzler et al., 2016).

Além disso, alguns estudos trazem como relevante para a ligação uma região na porção inicial 5' do microRNA (posição 2-7) que parece se ligar à porção 3'UTR do mRNA em grande parte das regulações, e denominaram-na “seed”. Essas *seeds* são classificadas em 5 tipos de acordo com o padrão de ligação, a 8mer, 7mer-a1, 7mer-m8, 6mer e a 6mer ‘fora de lugar’ (do inglês *offset*) (figura 2). Entretanto, os miRNAs também se ligam frequentemente sem a necessidade de interação na região *seed* (Helwak et al., 2013).

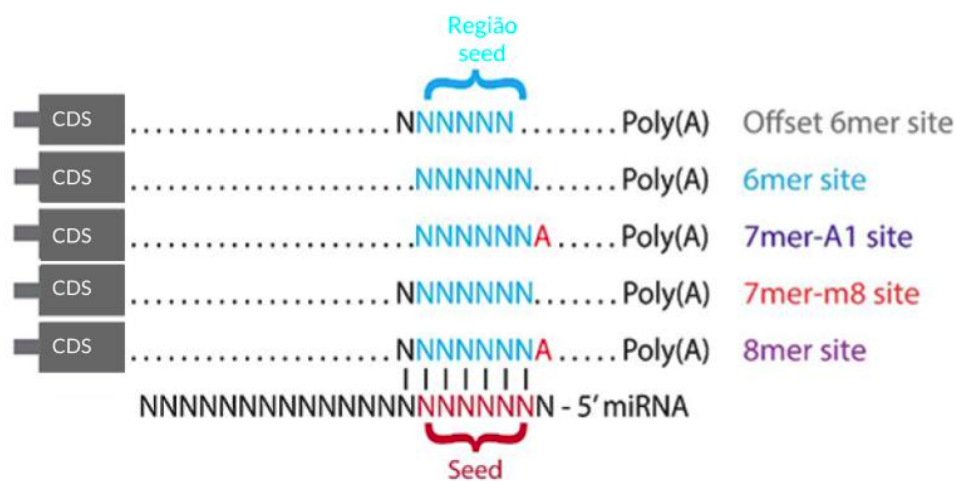


Figura 2: Representação das *seeds* que caracterizam as ligações canônicas entre o miRNA-mRNA. “N” representa um nucleotídeo; CDS = Região codificadora (do inglês *Coding sequence*), Fonte: TargetScan website (available on <http://www.targetscan.org/docs/7mer.html>) Adaptada.

Essa complementaridade imperfeita em animais, permite que vários miRNAs diferentes se liguem no mesmo alvo, ou que vários alvos diferentes sejam regulados pelo mesmo miRNA podendo este regular mais de 100 alvos (Zhou e Yang, 2012). Por conta disso, é importante considerar três características das interações entre os miRNAs e o mRNA.

São elas: competitividade, na qual vários miRNAs competem pelo mesmo sítio alvo; compensação, na qual um miRNA pode facilmente exercer a atividade de outro, então ele é produzido para substituir este outro; e a cooperatividade, na qual os miRNAs se ligam em conjunto com outros miRNAs em diferentes sítios no alvo.

Além da cooperação com outros ncRNAs, miRNA agem em muitos casos sinergeticamente com outros miRNAs (figura 3), podem ser co-regulados por fatores de transcrição ou ainda corregular genes com funções relacionadas, sendo essa sinergia relacionada à expressão tecido-específica de miRNAs (Xu et al., 2011; Na & Kim, 2013; Guo L et al., 2014). Adicionalmente é mais econômico energeticamente para a célula co transcrever vários miRNAs com funções semelhantes do que apenas um mesmo miRNA inúmeras vezes (Xue et al., 2017).

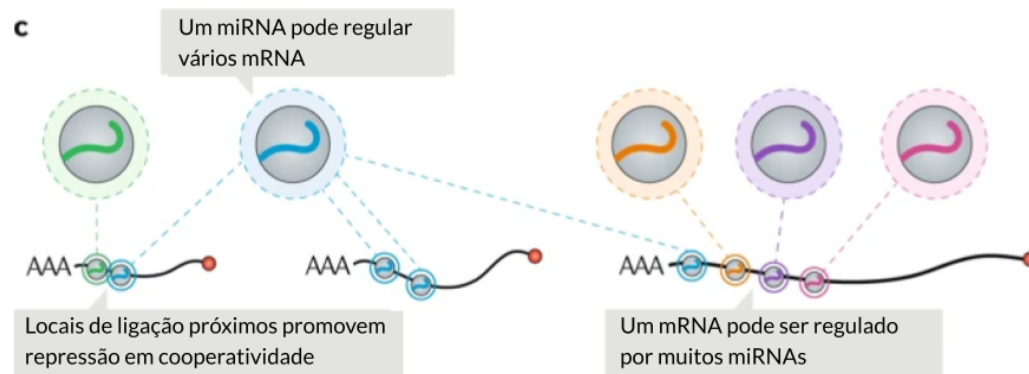


Figura 3: Cooperatividade dos miRNAs. Gebert e MacRae, 2019 (adaptada).

Adicionalmente, muitos miRNAs formam famílias por possuírem uma sequência de bases nitrogenadas parecidas, enquanto outros participam de *clusters* por seus genes precursores se localizarem na mesma região cromossômica (Guo et al., 2010). Os miRNAs pertencentes ao mesmo cluster são normalmente co-transcritos como um transcrito policistrônico, por isso é comum encontrá-los juntos em algumas situações ou tecidos (Lim et al., 2003; Kim e Nam, 2006). Por sua vez, miRNAs da mesma família são homólogos e tem sempre uma função relacionada um com o outro, podendo assim corregular vários processos biológicos agindo em cooperação ou compensação (Guo e Lu, 2010).

Mais de 800 miRNAs são descritos como expressos na placenta humana, sendo que a sua expressão modifica-se ao longo da gestação e pode ser identificada em várias situações. Os 46 miRNAs transcritos do cromossomo 19, por exemplo, pertencentes ao cluster C19MC

(do inglês *Chromosome 19 miRNA Cluster*), são específicos da placenta. Já o cluster C14MC contendo 52 miRNAs, que também é expresso pela placenta, já foi associado com funções cerebrais em adultos (Takahashi et al., 2014, Malnou et al., 2018).

Vários estudos que avaliaram a expressão de miRNAs em gestação normal demonstraram que miRNAs específicos da placenta são abundantes no plasma materno e que seus níveis de expressão variam ao longo da gestação (Luo et al., 2009; Miura et al., 2010 e Homadrikova et al., 2012). Mais detalhes sobre os miRNAs expressos durante a gestação normal, incluindo período gestacional e plataforma de expressão utilizada podem ser observados na figura 4 e apêndice 1. No entanto, não existe nenhum estudo que tenha relacionado a exposição ao estresse psicológico e social durante a gestação e/ou a intervenção psicossocial nesse período, com a diferença do perfil de miRNAs placentários entre casos e controles.

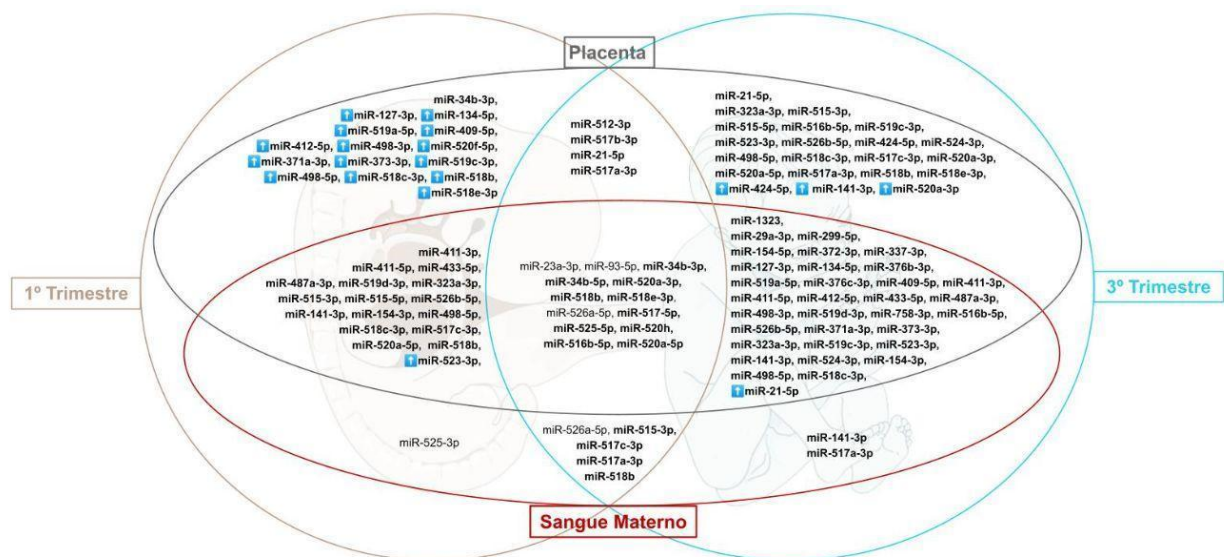


Figura 4: Diagrama de Venn representando a expressão de miRNAs na placenta e/ou sangue materno circulante (soro ou plasma) durante o primeiro e/ou terceiro trimestre de gestação. Os miRNAs achados em mais de dois estudos* estão em negrito. As setas para cima (↑) representam que o miRNA foi achado supra regulado no 1º ou 3º trimestre comparando um com o outro. As imagens de fundo são ilustrações do período.

Notas da figura 4:

1. Na busca, muitos outros miRNAs foram encontrados, porém para a imagem só foram considerados miRNAs que apareceram em pelo menos dois estudos. Assim, miRNAs que apareceram em mais de dois estudos, estão em negrito. A lista completa, incluindo os miRNAs que não tinham período de coleta especificado, está disponível nos apêndices.
2. *Com uma exceção, em Placenta e 3º trimestre foram incluídos miRNAs que apareceram em pelo menos quatro estudos para auxiliar a visualização, pois havia muitos miRNAs nesta situação.

3. Todos os miRNAs adicionados na imagem foram conferidos na miRbase.org, considerando as ID prévias, e com seu nome atualizado de acordo com a mais nova versão da base de dados. Os miRNAs que não estavam presentes na miRBase foram excluídos.
4. Os miRNAs que foram achados em mais de dois estudos e estiveram supra regulados em um estudo e infra regulados em outro (comparando trimestres), foram representados em negrito e com a imagem “↑” . (Para mais detalhes, a informação completa está disponível no apêndice 1.)

Em contrapartida, a maioria dos estudos de miRNAs em gravidez mostram a associação de miRNAs com complicações na gravidez, associados ou não a diferentes estressores. Muitos destes miRNAs têm sido descritos como biomarcadores de doenças ou complicações obstétricas, como Diabetes gestacional, pré-eclâmpsia, restrição do crescimento fetal, parto prematuro, entre outras (figura 5).

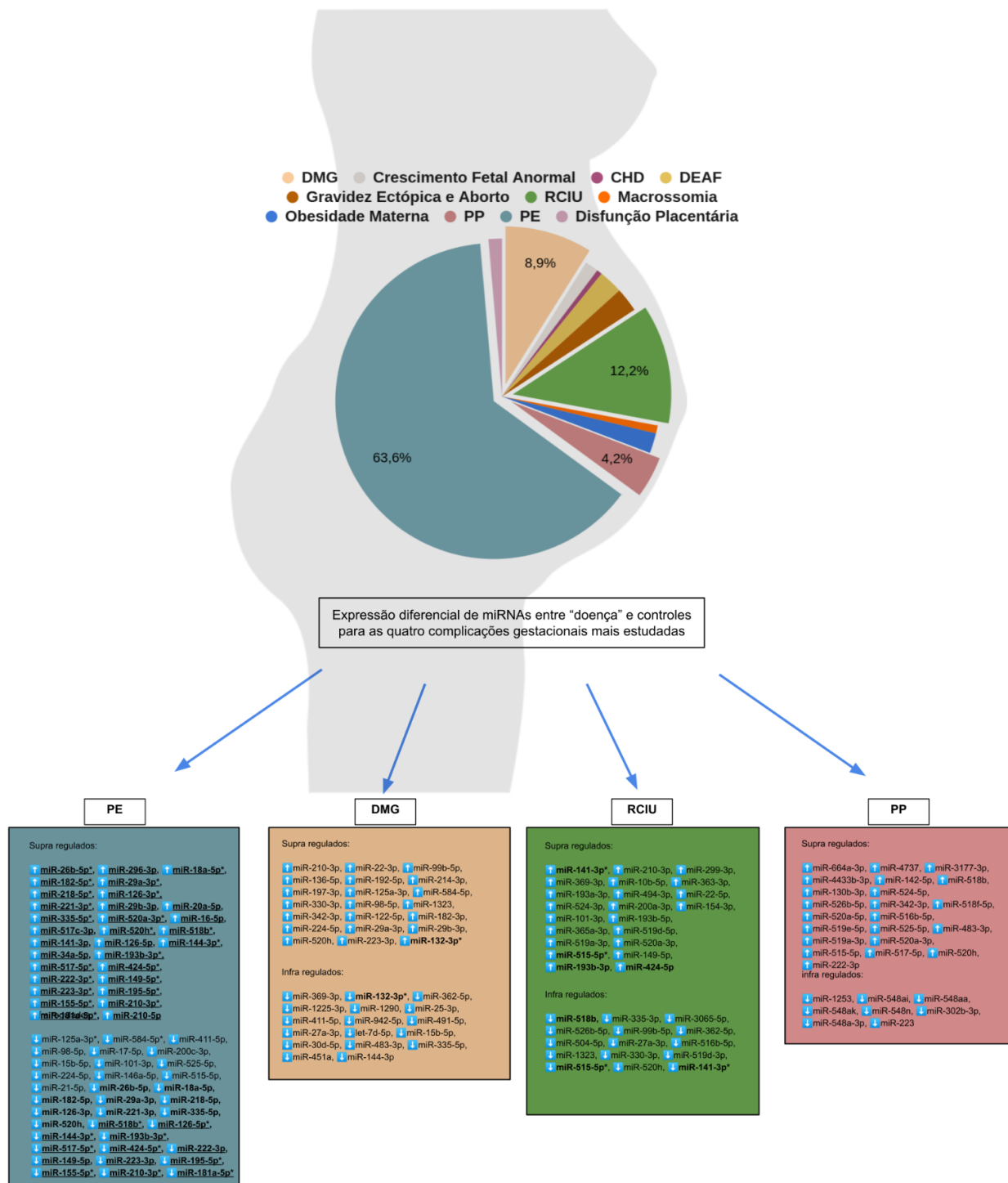


Figura 5: Expressão diferencial de miRNAs em complicações gestacionais para placenta, plasma e/ou soro. Com exceção de Parto Prematuro (que apresentou poucos estudos na busca), a imagem traz apenas miRNAs achados em pelo menos dois estudos para as complicações gestacionais pesquisadas. Para miRNAs achados em apenas um estudo e mais informações, checar o apêndice 2.

Notas da figura: As setas para cima (↑) representam que o miRNA foi achado supra regulado em doença comparado a pacientes controle, enquanto as setas para baixo (↓) representam os miRNAs infra regulados.

Os miRNAs em negrito são os que foram achados em pelo menos dois estudos e miRNAs sublinhados são os achados em no mínimo três estudos para mesma condição. PE por exemplo, como tinha muitos estudos sobre, todos os miRNAs supra regulados foram achados em pelo menos três estudos.

* Representa que o miRNA em questão foi encontrado supra e infra regulado para mesma condição em estudos diferentes.

PE = Pré-eclâmpsia, DMG = Diabetes *Mellitus* Gestacional, DEAF = Desordem do Espectro Alcoólico Fetal, RCIU = Restrição do crescimento Intrauterino, PP = Parto Prematuro, CHD = Doença Coronária Congênita.

Capítulo 2. Maneiras de estudar e analisar miRNAs

Tendo em vista a síntese, composição e funcionamento dos miRNAs, existem pelo menos seis diferentes formas básicas de pesquisá-los para entender seu funcionamento em um organismo vivo: 1) coleta e extração, utilizando o miRNA como biomarcador (Wang et al., 2016; Tsochandaridis et al., 2015); 2) busca do efeito dos polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês SNP, *single nucleotide polymorphism*) nos alvos dos miRNAs (Moszyńska et al., 2017); 3) análise de expressão diferencial entre duas ou mais situações específicas ou dois grupos (caso e controle) (Brito et al., 2020); 4) identificação dos alvos dos miRNAs (Seitz, 2017); 5) criação e análise de módulos reguladores miRNA-alvo (redes bipartidas) (Na e Kim 2013; Xu et al., 2011) e 6) identificação de diferenças entre duas redes bipartidas miR-alvo construídas a partir da diferença de expressão identificada em dois grupos diferentes (León e Calligaris, 2017). Neste trabalho focamos nas quatro últimas formas.

2.1. MiRNAs como biomarcadores e expressão diferencial em duas situações

A forma mais comum de estudar miRNAs até o momento é o uso destes como biomarcadores. Um biomarcador é uma molécula biológica, achada no sangue ou outro fluido corpóreo, que é um sinal de um processo normal ou anormal de uma condição ou doença (National, 2022). Pode ser usado para avaliar a resposta de um organismo a doenças quando há o aumento ou a diminuição de miRNAs específicos no sangue periférico de um paciente podendo assim servir como indicador de diagnóstico, prognóstico ou tratamento (Wang et al. 2016).

Entretanto, a busca por biomarcadores pode ser muito limitada quando baseada em associações do miRNA com a doença ou situação pesquisada, já que apenas a diferença de expressão de um ou alguns miRNAs no sangue periférico, comparado a um controle normal, não traz informações sobre a regulação daquele miRNA e qual o gene que ele regula, ou qual sistema biológico ele participa.

2.2. Identificação de miRNAs tecido-específicos

MiRNAs possuem expressão diferencial nos tecidos do corpo a depender da regulação necessária. Quando examina-se o sangue, como esses miRNAs tecido-específicos também circulam na corrente sanguínea, ao analisar o sangue periférico, não é possível identificar diretamente uma expressão tecido-específica. Assim, para identificar expressão tecido-específica, miRNAs podem ser extraídos diretamente dos diferentes tecidos do corpo e comparados com o sangue total. Adicionalmente, os miRNAs podem ser pesquisados no mesmo tecido em duas situações ou momentos diferentes (doença *versus* não doença, ou gravidez *versus* não-gravidez, por exemplo) a depender do objetivo de estudo (Guo Z et al., 2014).

A análise de expressão diferencial é realizada por três principais técnicas, qRT-PCR, análise de *microarray* de miRNAs e sequenciamento de RNA (RNAseq). Assim, sempre quando se deseja estudar miRNAs é importante ter em mente seu funcionamento e expressão diferencial em tecidos e situações específicas (Amirkhah et al., 2017).

As técnicas citadas são usadas tanto para a identificação qualitativa de miRNAs (como é também o “Northern blot”) quanto quantificá-los no organismo. Quando há necessidade de quantificação, o que é o caso de busca por expressão diferencial, pode ser realizada uma quantificação absoluta ou relativa dos miRNAs pesquisados. Na quantificação absoluta, olha-se diretamente a quantidade de miRNA que foi replicado. Já na relativa é utilizada uma amostra com quantidade conhecida, para ser um valor de referência, obtendo assim um valor final normalizado que é relativo ao da amostra conhecida e minimiza erros experimentais de quantificação. A técnica mais usada para quantificações absolutas ou relativas é o RT-qPCR principalmente quando se deseja pesquisar vários genes ao mesmo tempo (Song et al., 2017; Bissels et al., 2009; Hromadnikova et al., 2012).

O RT-qPCR é uma técnica que identifica o miRNA a partir da amplificação do cDNA, que é o DNA formado a partir da transcrição reversa do RNA em questão. Esse cDNA é então amplificado na máquina de forma logarítmica, gerando uma fluorescência que vai aumentando a cada ciclo (ou a cada replicação do cDNA em questão). Essa fluorescência pode ser gerada de duas formas a depender do tipo de PCR: a partir de moléculas fluorescentes intercaladas no DNA (*Sybr green*), ou a partir de *probes* que se ligam à sequência de interesse e que emitem fluorescência quando ela é clivada no processo de

formação da fita complementar à sequência de interesse no DNA (que é o caso do *Taqman*) (Arikawa et al., 2008).

Em todo PCR, a quantidade de ciclos de replicação que aquele DNA passou é medida pela fluorescência emitida, na qual um limiar é pré-determinado, chamado Ct (do inglês *Cycle threshold*), que é a quantidade mínima de fluorescência que indique a presença do RNA em questão na amostra inicial. Assim, Cts mais baixos indicam que a amostra tinha uma alta quantidade da molécula em questão, pois ela foi muito replicada, e Cts mais altos indicam pouca quantidade da molécula (Schmittgen e Livak, 2008).

Após a obtenção dos valores de Ct, é realizado um método comparativo chamado de $\Delta\Delta Ct$ que usa $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (dois elevado a menos delta delta Ct) para obtenção de valores de RQ (do inglês *Relative Quantification*) e assim comparar grupos (como casos e controles) a partir desses valores utilizando dois métodos estatísticos: teste T para distribuições normais e Wilcoxon para distribuições não normais (Yuan et al., 2006).

2.3. Identificação e/ou predição de alvos e criação de redes

A identificação e/ou predição de alvos para criação de redes pode ser feita utilizando bases de dados com interações experimentalmente validadas (Chou et al., 2018; Karagkouni et al., 2018; Dweep et al., 2015; Xiao et al., 2009), por predição dos alvos a partir de ferramentas computacionais como mencionado na revisão sistemática desenvolvida (apêndice 6) ou por validação experimental.

A validação experimental da interação pode ser feita de forma direta ou indireta. Na direta, é avaliado diretamente a interação do miRNA com o mRNA a partir da inserção de um sítio de ligação do miRNA em um sistema repórter o qual mede mudanças no nível da proteína traduzida pelo mRNA que é regulado pelo miRNA em questão. Também pode ser medida a avaliação da co-expressão do miRNA e seu alvo. Na forma indireta, observa-se os efeitos biológicos que uma expressão alterada de um miRNA, mRNA ou proteína pode causar utilizando tecnologias de alto-rendimento. A autenticidade da interação deve então ser validada em um modelo biológico de interesse para preencher os três critérios: primeiro coexpressão do miRNA e alvo predito. Segundo, uma direta interação entre o miRNA e o sítio alvo precisa ser provada. Terceiro, experimentos de identificação de perda ou ganho de função devem ser realizados para demonstrar a regulação do miRNA na expressão da proteína em questão. Quarto e último, deve ser analisado se a mudança na expressão das

proteínas em questão estão associadas com a mudanças de função biológica (Ambros et al., 2003; Kuhn et al., 2008; Riolo et al., 2020).

Para a predição de alvo em animais existem mais de 100 ferramentas das quais 50 estão atualmente disponíveis (revisão sistemática desenvolvida e já submetida disponível no apêndice 6). Na predição, a força de uma possível interação é, por sua vez, medida por meio de fatores que influenciam a formação do duplex miRNA-alvo a partir da complementaridade das sequências do miRNA e seu alvo, se destacando as regiões *seeds*, e pela estabilidade termodinâmica da ligação.

Após a identificação ou predição dos alvos, é possível a criação de redes complexas de interação, que podem ser representadas por uma estrutura de dados chamada grafo (Riffo-Campos et al., 2016; Kehl et al., 2017).

2.4. Análise de redes de miRNAs

2.4.1. Criação de Redes Bipartidas

Rede é outro nome dado para a estrutura matemática chamada Grafo, formada por vértices (nós) e arestas (ligações). Após a identificação de alvos de múltiplos miRNAs, o próximo passo no estudo dos microRNAs é a criação das redes de interação bipartidas (geralmente do tipo acíclica dirigidas na qual as ligações saem do miRNA em direção ao RNA, e nenhum vértice se liga a si mesmo) baseadas na interação microRNA-alvo. Para redes de miRNAs, estes alvos podem ser genes, modificações epigenéticas, doenças, fenótipos, sintomas e/ou proteínas.

Nas redes biológicas, os nós são os fatores biológicos que se deseja estudar, e as arestas as interações orgânicas que ocorrem entre esses nós, geralmente há muitos nós pouco conectados e poucos nós muito conectados (chamados *hubs*) (Barabási A-L, 2009). No caso de uma rede bipartida, os nós são compostos de dois grupos de fatores biológicos diferentes que apenas se ligam um com o outro (figura 6), assim em uma rede de miRNA-alvo, não há ligações miRNA-miRNA ou mRNA-mRNA (Beckett, 2016).

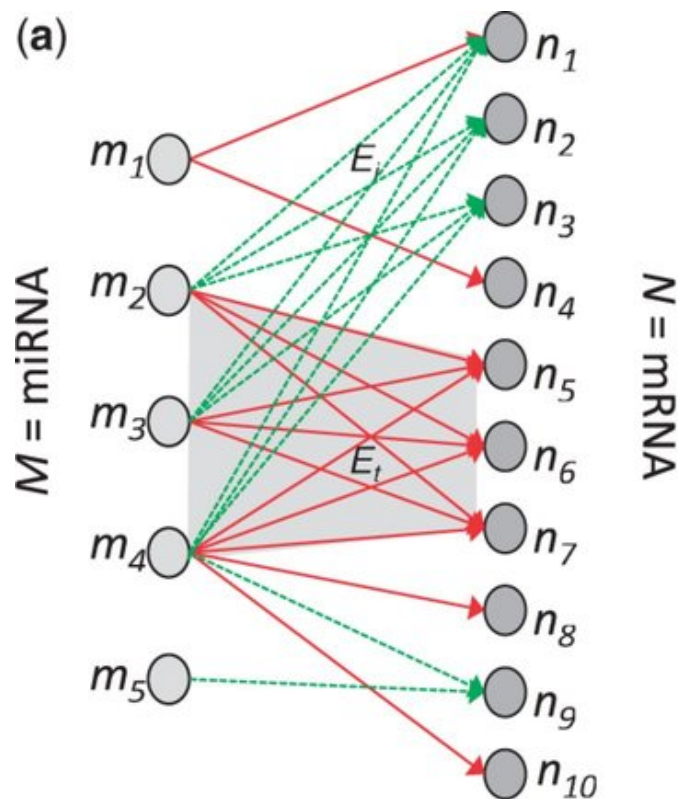


Figura 6: Exemplo de rede bipartita miRNA-mRNA. As setas representam a direção da interação, na qual um miRNA regula o mRNA. As cores das setas, por sua vez, representam regulação direta negativa (na qual o miRNAs diminui a expressão do mRNA, em verde) ou direta positiva (na qual o miRNA aumenta a produção do mRNA que ele regula). Bryan et al., 2014 (adaptada).

2.4.2. Análises de uma ou mais redes gênicas miRNA-mRNA e módulos de coregulação

As análises de miRNAs comparando duas condições se baseiam em: análise de expressão diferencial, análise de enriquecimento dos alvos dos miRNAs e comparação de duas de redes de interação miRNA-alvo criadas, uma para cada condição (Shukla et al., 2017).

A análise de redes bipartidas e dirigidas se mostra ainda um pouco complicada. Primeiro, muitas medidas de centralidade e topologia das redes são invalidadas em redes como essas, como por exemplo, “bridgeness” (formações de pontes, do inglês), já que nessas redes não são representadas interações miRNA-miRNA e alvo-alvo. Assim, novas formas de análise e comparação de redes bipartidas precisam ser consideradas ou em alguns casos criadas.

Dentre as ferramentas atuais de análises de redes bipartidas pode-se destacar a CONDOR (*COmplex Network Description Of Regulators*) (Platig et al. 2016), que visa a identificar comunidades densamente conectadas (módulos) em redes bipartidas, que é utilizada na ferramenta ALPACA (*ALtered Partitions Across Community Architectures*) que tem o intuito de comparar redes de escalas genômicas (em que o número de genes e interação é enorme) de diferentes condições e identificar módulos que as diferenciam (Padi e Quackenbush, 2018). Entretanto, essas atuais análises de redes bipartidas só permitem como entrada dois fatores genéticos (por exemplo fatores de transcrição e genes) com seus valores de expressão, ao invés de valores de diferença de expressão em duas situações. Além disso, a identificação desses módulos interconectados pelo algoritmo utilizado PUMA (*PANDA Using MicroRNA Associations*) para miRNAs (Kuijjer et al., 2020) executa uma maximização de modularidade e não é exaustiva, podendo excluir alguns módulos de relevância biológica.

Existem ainda outras ferramentas que permitem criar redes de miRNAs-alvo para visualização e análise, e estão disponíveis em interfaces de ferramentas online (*web-tool*) como o miRNet (Fan et al., 2016) e o mirConnX (Fan et al., 2016; Huang et al., 2011), precisando apenas de uma lista de miRNAs como entrada. O Cytoscape, por sua vez, (Shannon, et al., 2003) é bastante usado para visualização e manipulação de redes feitas a partir de predições de alvo prévias. Porém, essas ferramentas também não criam módulos ou clusters baseados na informação biológica dos fatores em questão.

Como mencionado, três características importantes para se levar em consideração durante a análise de redes miRNA-alvo são os mecanismos de cooperatividade, competitividade ou compensação dos miRNAs, e assim formar módulos de correção dentro das redes, nos quais dois ou mais miRNAs regulam em conjunto o mesmo gene ou vários genes. Assim, esses módulos podem ser analisados separadamente.

3. Justificativa e Hipótese

Como mencionado, não existe nenhum estudo que tenha relacionado a exposição ao estresse psicológico e social durante a gestação e/ou a intervenção psicossocial com a diferença do perfil de miRNAs placentários entre dois grupos (casos e controles). Também é importante levar em consideração que não há ainda na literatura, estudos que relacionem exposição ao estresse pré-natal, com a expressão de miRNAs liberados pela placenta na circulação materna ao longo da gestação, associado a desfechos de neurodesenvolvimento.

Adicionalmente, a maioria dos trabalhos que constroem redes de miRNAs a fazem a partir de uma análise de expressão diferencial e predição dos alvos de miRNAs diferencialmente expressos entre casos e controles. E assim faz-se a construção de uma única rede e em seguida, busca-se o enriquecimento de vias, utilizando KEGG por exemplo (Kanehisa e Goto, 2000) e processos biológicos, utilizando Gene Ontology por exemplo (Mi et al., 2017), relacionados aos genes alvo. No entanto, tem-se observado que ferramentas de predição de alvo apresentam um grande número de falsos positivos e/ou falso negativos, o que traz grande impacto para análises posteriores. Nosso grupo, por exemplo, vem trabalhando com estas ferramentas e integração de dados funcionais como CLIP e CLASH para melhorar a predição de sítios alvos de miRNAs que tem sua ligação interferida por SNPs (Piovezani, 2013; Oliveira, 2018).

Ademais, diferentes soluções baseadas em integração de dados vêm sendo descritas para diminuir essa baixa acurácia, como o uso de várias ferramentas de predição e criação de um escore único (Seitz, 2017), priorização de miRNAs-mRNAs relacionados às mesmas vias metabólicas baseados em estudos da literatura (Kanehisa e Goto, 2000; Dumortier et al., 2013), priorização de pares miRNA-mRNA mapeados em módulos de correção, uma vez que miRNAs que participam de um módulo tendem a regular os mesmos transcritos (dois microRNAs regulando o mesmo gene por exemplo) (Cai et al., 2009; Yang, et al., 2014; Walsh et al., 2016). Porém, ainda assim, o uso de alvos já validados experimentalmente, por mais que exclua alvos em potencial, é a forma mais segura de identificar alvos de miRNAs.

Dada a funcionalidade e expressão de miRNAs, este trabalho hipotetiza que miRNAs placentários possam nos dar mais informações sobre a comunicação materno-fetal do que miRNAs totais do sangue. Desse modo, para selecionar miRNAs específicos da placenta existem três maneiras seguras: 1) extraíndo-os direto da placenta, o que só pode ser feito após

o parto, não permitindo avaliação temporal; 2) extraíndo-os de exossomos placentários; e 3) extraíndo do sangue miRNAs já identificados como expressos tanto no sangue como na placenta em estudos prévios. Entretanto, até o momento não existe lâmina comercial pronta com miRNAs placentários, sendo necessária a construção da mesma.

Outro ponto importante é que na maioria das análises de rede envolvendo miRNAs, uma única rede é criada comparando dois grupos, por exemplo casos e controles de uma doença, ou seja, a rede é construída usando os miRNAs diferencialmente expressos entre os grupos em questão e os seus genes preditos (Bastos EP, et al.; 2016). Nestes casos, após a obtenção da rede, medidas topológicas e algoritmos de clusterização podem ser usados apenas para priorizar genes de uma única rede.

Todavia, a literatura mostra que trabalhar com duas redes de dados de expressão gênica e explorar alterações da composição das redes ou suas propriedades topológicas por meio da comparação de duas condições, além de gerar melhor replicabilidade entre diferentes estudos (Simões et al., 2015) também acrescenta informação biológica para interpretação dos dados (Langfelder e Horvath, 2008; Feltrin et al., 2019). Além disso, identificar e utilizar a expressão de miRNAs em duas situações para dois grupos diferentes fornece mais informação do que quando é utilizado apenas uma situação dentro de cada grupo.

Assim, para trabalhar com duas redes gênicas a fim de obter a diferença entre estas, recentemente algumas técnicas de comparação de redes complexas vêm sendo criadas (Assenov et al., 2008; Rahiminejad et al., 2019; Takahashi et al., 2012; Santos et al. 2015; Chen et al., 2018). Entretanto, como o uso de redes é aplicado em vários campos de estudo, uma análise minuciosa é necessária para a escolha do melhor método de comparação para cada situação ou propósito de estudo.

Alguns desses métodos de comparação se baseiam em comparações topológicas locais entre os nós e as arestas de uma rede (Assenov et al., 2008), outros em comparações mais globais levando em consideração caminhos entre os nós (Rahiminejad et al., 2019), na distribuição espectral das redes e em entropia (Takahashi et al., 2012; Santos et al. 2015; Chen et al., 2018) e outros como explanado na introdução, comparam duas redes a partir da modularização. Porém, a grande maioria não é específica para miRNAs, não levando em consideração particularidades da sua atividade (ALPACA por exemplo). Ademais, a comparação de redes biológicas é uma área ainda pouquíssimo explorada em redes de miRNAs.

Diante dos problemas expostos acima, este trabalho tem o objetivo de agregar dados de diferença de expressão de miRNAs tecido-específicos analisados em dois tempos, no *baseline* (entre a oitava e décima sexta semana de gestação (T0)) e a trigésima semana de gestação (T1), e seus alvos a partir da criação e comparação de redes complexas de amostras de mães que foram submetidas (casos), ou não (controles) à intervenção psicossocial.

Nossa proposta (esquematizada na figura 7) pretende resolver dois problemas atuais encontrados no estudo de redes de miRNAs-alvos. Primeiro, a baixa especificidade de alvos identificados computacionalmente, com alta taxa de alvos falso-positivos em algoritmos de predição, sendo mais viável utilizar alvos já experimentalmente validados e ainda considerar expressão gênica tecido-específica. Segundo, a comparação de duas redes de miRNA-alvo bipartidas e direcionadas que se mostra um desafio atualmente, sendo assim utilizado uma metodologia que cria, seleciona e prioriza módulos de correção de miRNA-alvo, considerando propriedades biológicas da ação dos miRNAs e expressão tecido-específica desses miRNAs.

Para tal, criamos um algoritmo de criação e seleção de módulos de correção de miRNAs, a partir de miRNAs placentários e seus alvos validados obtidos da miRTarbase (Chou et al., 2018). Por conseguinte, os algoritmos usados priorizam esses módulos a partir de um ponto de vista biológico utilizando dados de expressão dos miRNAs em questão e genes placentários obtidos da base de dados Tissues 2.0 (Palasca et al., 2018) e levando em consideração as atividades de cooperatividade, compensação e competitividade dos miRNAs ao considerar a correção.

Estes módulos são criados para casos e controles e comparados no fim a partir do enriquecimento dos genes dos módulos que são diferentes entre os grupos em questão. Com os resultados do presente estudo, mostramos que é possível comparar casos e controles usando a diferença entre módulos como *proxy* (representante) da reatividade placentária; e futuramente priorizar miRNAs ou módulos de miRNAs que possam ser usados como possíveis marcadores biológicos relacionados à eficácia da intervenção.

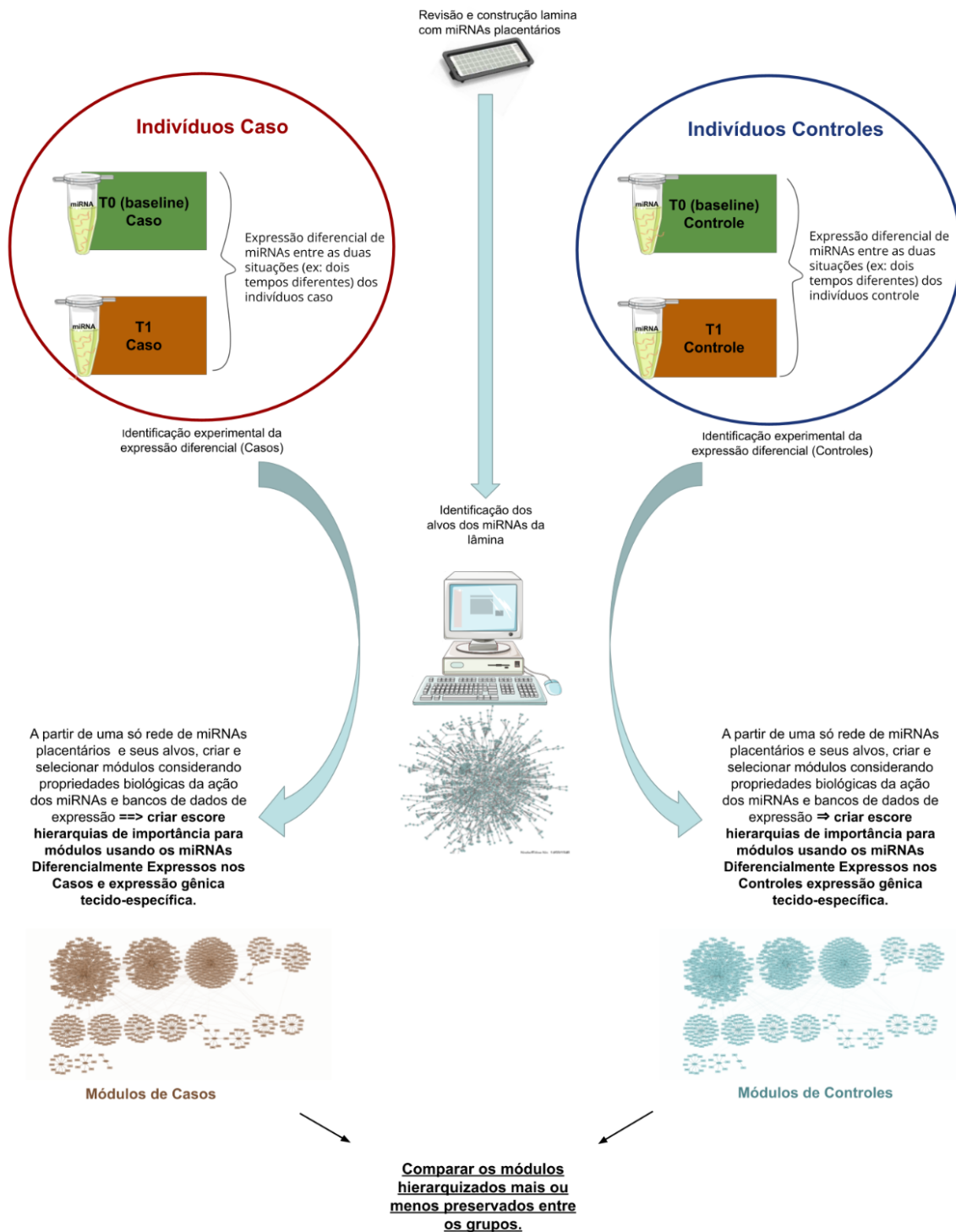


Figura 7: Esquema da proposta do estudo. Esta proposta pretende resolver dois problemas principais: 1- Alvos Falso positivos na predição; 2- Comparação de redes bipartidas e direcionadas de miRNA-alvo.

4. Objetivos

4.1. Objetivos Gerais:

O presente estudo tem dois objetivos gerais:

1- A Partir de miRNAs diferencialmente expressos em dois períodos específicos da gestação, e seus alvos identificados criar (considerando propriedades biológicas da ação dos miRNAs) módulos de miRNA-mRNA, em gestantes submetidas (casos) ou não (controles) à intervenção do Programa Jovens Gestantes.

2- Desenvolver uma técnica para priorizar módulos de miRNA-mRNA, considerando especificidade de expressão tecidual, para assim buscar diferenças entre dois grupos avaliados (ex: ensaios clínicos randomizados).

4.2. Objetivos específicos:

a) Selecionar miRNAs específicos do período gestacional (advindos da placenta, de estudos de casos e controles e em períodos gestacionais específicos) para construção de uma lâmina experimental específica.

b) Identificar os miRNAs diferencialmente expressos entre dois períodos gestacionais e dos dois grupos de primigestas, submetidas ou não a intervenção psicossocial.

c) Criar redes de interação miRNA-mRNA a partir dos miRNAs diferencialmente expressos entre os dois tempos da gestação e dados de bancos de interação miRNA-mRNA validadas para cada grupo (casos e controles).

d) Criar um método para selecionar módulos miRNA-mRNA considerando propriedades biológicas dos miRNAs e expressão tecidual.

e) Comparar os módulos priorizados para achar diferenças entre dois grupos: com intervenção (caso) e sem intervenção (controle).

5. Material e métodos

O Fluxograma (figura 8) representa toda a metodologia, desde a coleta de sangue e construção da placa de miRNAs para o experimento, até a criação do método e comparação dos módulos de caso e controle ao fim.

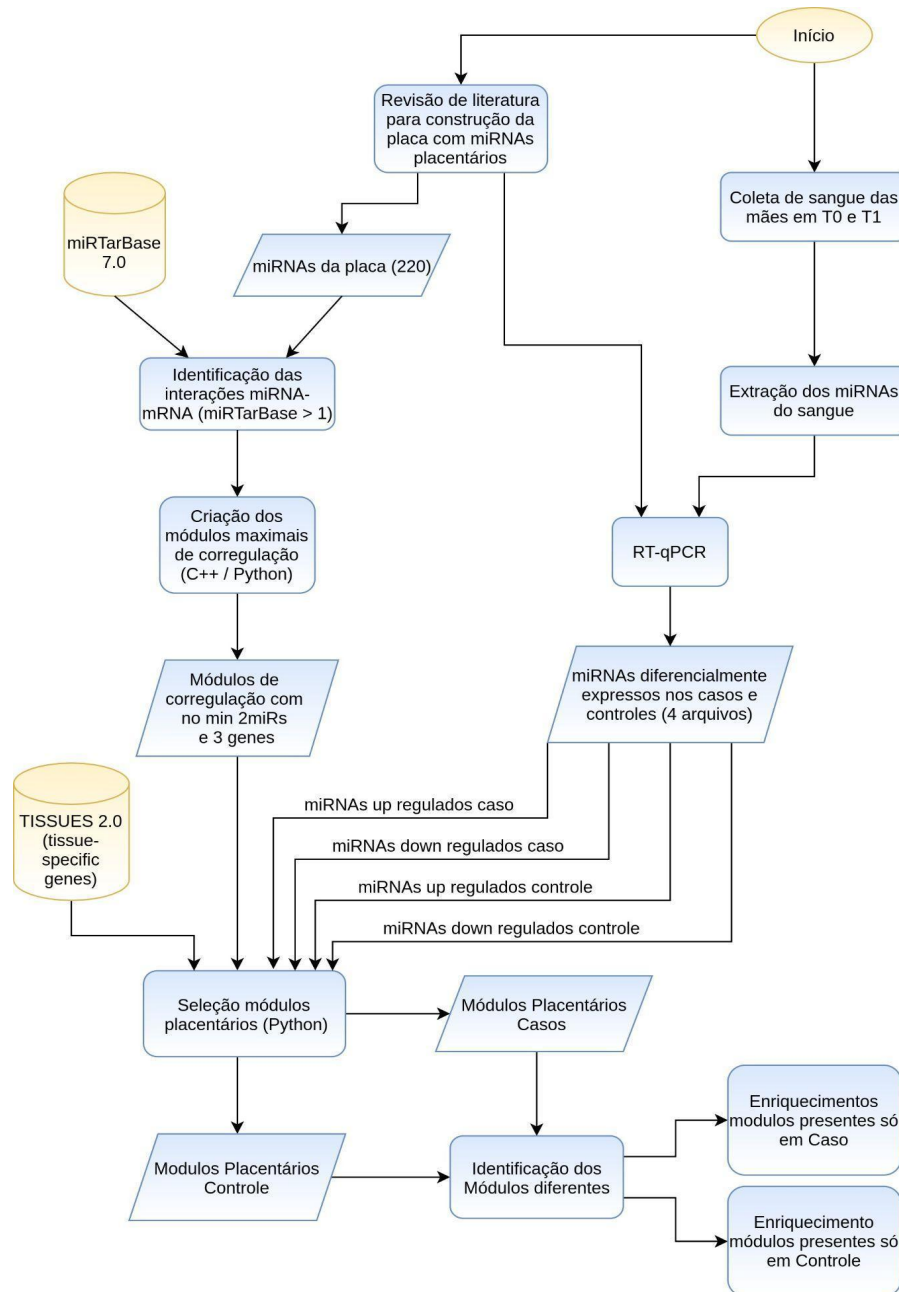


Figura 8: Fluxograma da metodologia completa. Os retângulos com bordas arredondadas representam um processo; os retângulos angulados são arquivos de entrada e saída; os cilindros, as bases de dados.

5.1. Casuística

Para a seleção das gestantes do projeto “O efeito do Programa de Visitação para Jovens Gestantes sobre o desenvolvimento infantil: um estudo piloto” foram aplicados os critérios de inclusão e exclusão abaixo:

Critérios de inclusão das mães:

- Primigesta;
- Ter idade entre 14 anos e 20 anos e 11 meses;
- Ser moradora da região de atendimento das seguintes UBS da região Oeste do município de São Paulo: Jardim D’Abril, Jardim São Jorge, Jardim Boa Vista, Jardim Jaqueline, Vila Dalva, Vila Nova Jaguaré, Paulo VI, Vila Sônia, Vila Borges e Malta Cardoso, Real Parque e São Remo;
- Ser pertencente às classes C, D ou E.

Critérios de exclusão das primigestas:

- Gestações classificadas como sendo de risco, malformação fetal, doença congênita que comprometem o desenvolvimento serão acompanhadas (uma vez que este diagnóstico ocorre *a posteriori*), porém serão excluídas da análise;
- Gestantes portadoras de deficiências mental, visual ou auditiva ou doenças crônicas que se associam a alterações de desenvolvimento fetal.

Em seguida, foram coletadas amostras de sangue periférico materno em dois períodos, entre a 8^a e 16^a semana de gestação (Tempo 0 - T0) e na 30^a semana de gestação (Tempo 1 -T1). Tanto no T0 como no T1 o sangue periférico foi coletado para a separação de plasma e extração dos miRNAs. Foram obtidas 63 amostras, sendo 32 casos (gestantes que receberam intervenção psicossocial) e 31 controles (gestantes que não receberam intervenção).

No estudo piloto, as gestantes foram randomizadas para o grupo de visitação ou para acompanhamento pré-natal e de puericultura habitual. Além das visitas domiciliares, foi realizada uma avaliação na entrada do projeto, entre 8 e 16 semanas e com 30 semanas de gestação, para a coleta do sangue periférico e extração e armazenamento do plasma. As

medidas de exposição a fatores de risco foram coletadas por meio de questionários e testes psicológicos, são elas: informações demográficas: dados demográficos (materno, paterno e para criança); histórico psiquiátrico familiar: *Family History Screen*; fatores do pré-natal e perinatal: idade gestacional, peso antes de engravidar, BMI (do inglês *Body Mass Index*), estresse psicossocial na gestação, doenças gestacionais, exposição a agentes tóxicos, peso ao nascer, índice de Apgar; estímulo e suporte de vida: *Home Observation for measurement of the Environment* (HOME); violência doméstica: do inglês *World Health Organization Violence Against Women* – WHO VAW; violência interpessoal: CIDI 2.1. No *baseline* não foi observada nenhuma diferença de médias entre os grupos sugerindo uma boa randomização.

A caracterização da amostra para identificar diferenças no *baseline* (início do projeto) foi feita utilizando *Teste t* para dados paramétricos, e *Wilcoxon* para não paramétricos utilizando os dados de escolaridade, peso pré-gestacional, *Beck Depression Inventory*, *Beck Anxiety Inventory*, Ingestão de álcool, Tabaco e Renda Familiar, e considerando p valor significativo < 0,05.

5.2. Extração do miRNAs placentários do plasma e síntese de cDNA

O projeto temático responsável pelos experimentos com as amostras das mães do “Primeiros Laços” é intitulado "Integração de dados de exposição ambiental pré e pós natal e sua associação com medidas biológicas para busca de marcadores biológicos de transtornos do neurodesenvolvimento." e foi aprovado pelo comitê de ética em 24 de Julho de 2020 (anexo 1).

O sangue materno, coletado em tubo contendo anticoagulante EDTA, foi centrifugado a 3000rpm por 10 minutos a 4°C para separação do plasma. As amostras de plasma foram armazenadas a -80°C até o momento do uso. Para extração do miRNA do plasma foi utilizado o kit *miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (50)* (QIAGEN). Após a extração dos miRNAs foi realizada uma verificação de amplificação a partir do uso de um microRNA exógeno (cel-miR-39) adicionado antes da extração do microRNA em todas as amostras em concentração conhecida e previamente padronizada.

5.3. Seleção do microRNAs para a lâmina de análises de expressão diferencial

A análise do perfil de expressão de miRNAs placentários foi planejada para ser realizada a partir do ensaio *TaqMan Advanced miRNA Human Serum/Plasma* (Invitrogen, Carlsbad, Califórnia, EUA), por PCR em Tempo Real utilizando o equipamento Open Array (Thermo Fisher Scientific Inc, Carlsbad, California, USA). Esta tecnologia utiliza lâmina contendo 48 *subarrays*, cada um com 64 orifícios, permitindo a realização de 3.072 ensaios em cada lâmina (figura 9). Cada orifício tem 300 µm de diâmetro e 300 µm de profundidade e é tratado com revestimentos hidrofílicos e hidrofóbicos, que retêm os reagentes e as amostras por meio de tensão superficial.

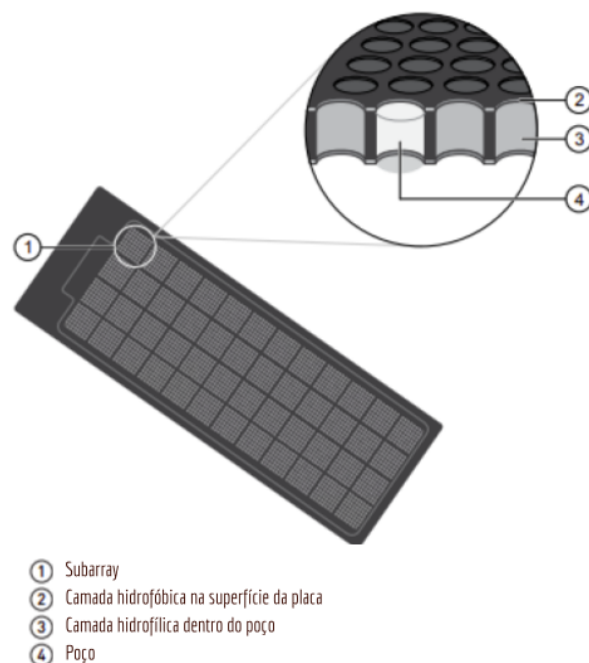


Figura 9: Representação das lâminas utilizadas para análise de expressão de miRNAs. Fonte: TaqMan Advanced miRNA Assays User Guide—TaqMan OpenArray, Adaptada.

O formato que iremos utilizar no projeto permite a análise de 224 ensaios, sendo 220 miRNAs alvo, três controles endógenos e um controle exógeno para cada amostra, além dos controles positivo (amostra calibradora) e negativo da reação. Para a seleção dos miRNAs, controles endógenos e exógeno que farão parte das lâminas customizadas, realizamos uma extensa revisão da literatura no PubMed (que acessa principalmente a base de dados MEDLINE) utilizando as seguintes expressões booleanas:

1. (microRNA OR miRNA) AND (expression) AND (pregnancy) AND (placenta OR plasma)
2. (microRNA OR miRNA) AND (expression) AND (gestational age) AND (placenta OR plasma)
3. (FGR) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
4. (TLR OR Toll-like-Receptor) AND (placenta) AND (miRNA or microRNA)
5. (hypoxia) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
6. (mammalian target of rapamycin OR mTOR) AND (placenta) AND (mirna OR microrna)
7. (miRNA OR microRNA) AND (pregnancy OR pregnant OR gestation) AND (mtor OR mammalian target of rapamycin)
8. (social stress) AND (pregnancy) AND (miRNA OR microRNA)
9. (miRNA OR microRNA) AND (pregnancy OR pregnant OR gestation) AND (cortisol OR glucocorticoid)
10. (OGT OR O-linked-N-acetylglucosamine transferase OR O-GlcNAc transferase) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
11. (Serotonin) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
12. (Cortisol) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
13. (T3 OR tri-iodothyronine) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
14. (T4 OR thyroxine) AND (placenta) AND (miRNA OR microRNA)
15. (Stress) AND (pregnancy) AND (miRNA OR microRNA)

Como para as cinco últimas expressões nenhum artigo foi selecionado, a inclusão de miRNAs foi feita com os artigos das demais expressões (1-9). Inicialmente foram incluídos apenas miRNAs descritos em mais de um estudo. Ao final da seleção utilizando ferramentas de bioinformática, restaram 219 miRNAs de interesse descritos em mais de um estudo, além de três controles endógenos e um controle exógeno, referenciados tanto no manual do fabricante como em estudos anteriores (figura 10). Porém, como descrito anteriormente, o formato da lâmina comporta 224 miRNAs, por isso, foi reincluído mais o hsa-miR-139-5p, que tinha sido inicialmente retirado por apresentar em apenas um estudo, mas foi encontrado descrito em um estudo como alvo e em outro como endógeno (Blondal et al., 2013). Este levantamento bibliográfico gerou um artigo de revisão sobre miRNAs de plasma, placenta e exossomos que está em desenvolvimento (apêndice 5).

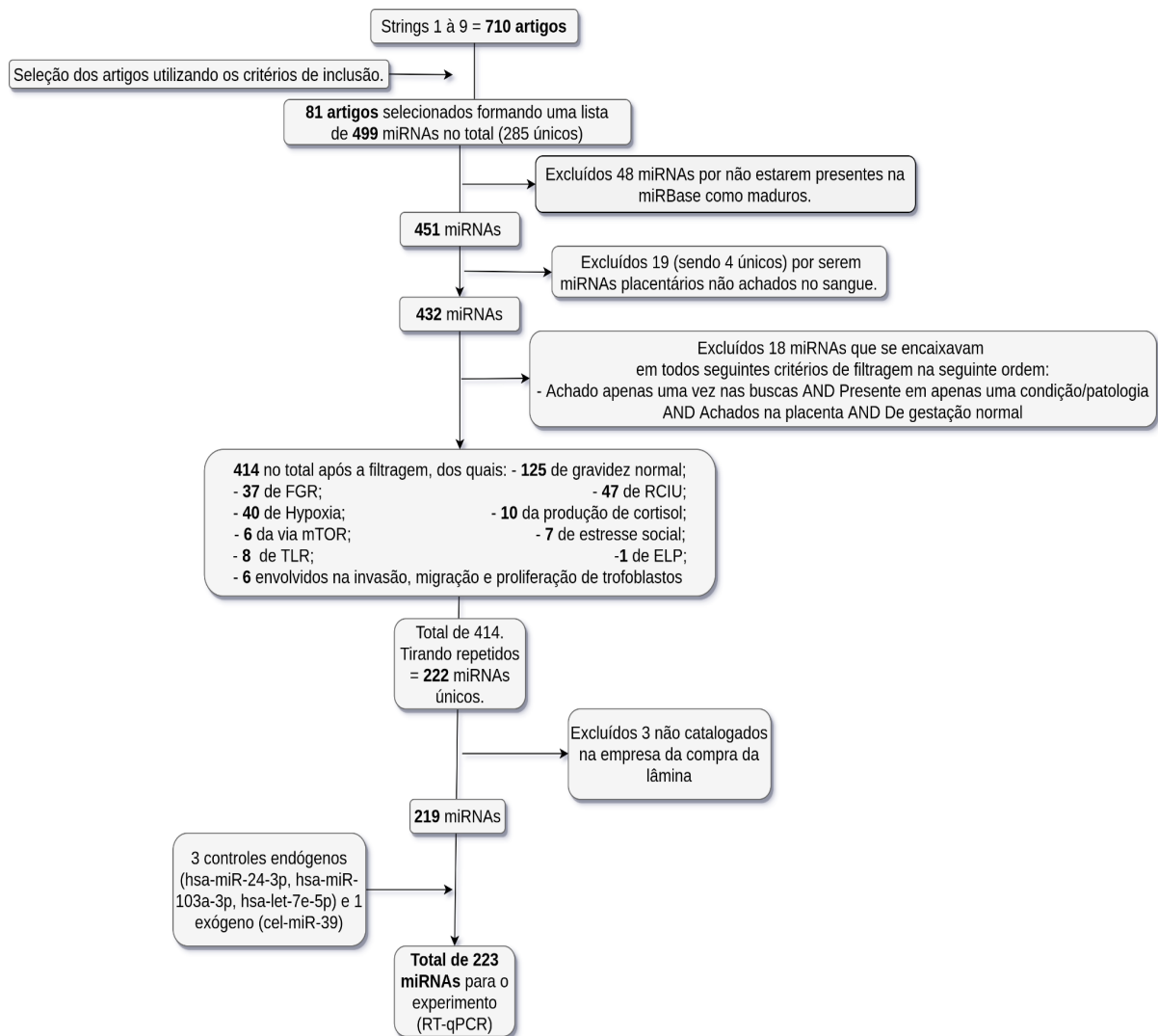


Figura 10: Fluxograma de seleção dos miRNAs para a construção da placa. Retângulos à esquerda representam inclusão de estudos e a direita exclusão de estudos.

5.4. RT-qPCR para diferença de expressão dos microRNAs

O ensaio *TaqMan Advanced miRNA Human Serum/Plasma*, utilizando placas customizadas com miRNAs maduros específicos da gravidez obtidos após a revisão de literatura acima exige cálculo de diferença de expressão. Esse cálculo de diferença de expressão a partir da quantificação relativa (*fold change or relative quantification - RQ*) foi realizado com dados testes pelo cálculo $2^{-\Delta\Delta Ct}$ para a criação do pipeline, utilizando os valores de ΔCt do T1 contra os valores de ΔCt do T0. Nesta análise, a depender da distribuição dos valores de ΔCt de cada microRNA entre as amostras (normal X não normal), foi

escolhido o teste estatístico apropriado para calcular a significância dos valores de diferença de expressão a partir de um p valor < 0.05 ; No qual o Teste T é usado para amostras normais e Wilcoxon para não normais (Yuan et al., 2006).

5.5. Problemas técnicos que atrasaram os experimentos

Toda parte laboratorial deste projeto foi e está sendo realizada pela Dra Gisele Rodrigues Gouveia. Primeiramente em Março de 2020 a pandemia impediu a compra dos reagentes por 6 meses, os quais após comprados demoram mais 6 meses para chegar e para darmos continuidade aos experimentos.

Em continuidade, após as etapas de extração de RNA, síntese de DNA complementar, avaliação do controle exógeno para avaliar a eficiência destas etapas e, finalmente, a possível análise do perfil de expressão de miRNAs ao longo da gestação, utilizando os protocolos padronizados foram iniciadas. Porém, não foi possível reproduzir os resultados que haviam sido padronizados para a avaliação do controle exógeno com as primeiras amostras, o que levou ao atraso e interrompimento dos experimentos a fim de investigar as possíveis causas de interferência. Após inúmeros testes junto à assessoria científica da empresa que fornece os reagentes utilizados no experimento, foi detectada a presença de fungos nos filtros ópticos do equipamento de PCR em Tempo Real, levando à necessidade de manutenção corretiva do equipamento, além da perda de eficiência nos kits de síntese de cDNA adquiridos, sendo necessário a solicitação da troca dos mesmos. Também foi observado um aumento de eficiência da reação diminuindo o volume de eluição do RNA ao final do processo de extração.

Após estas adequações, foi possível obter os resultados esperados para o controle exógeno (amostras com ciclo de amplificação em torno de 28) e realizar a retomada dos experimentos que estão em execução. Mas devido a tudo isto conseqüentemente, não temos os dados originais, nos obrigando a criar o resto do pipeline com dados fictícios de expressão de miRNA.

5.6. Criação da rede e módulos de interação miRNA-mRNA

Foi criada uma rede de interação de miRNA-mRNA a partir dos miRNAs da placenta (antes da execução do experimento) e seus mRNAs alvos obtidos da base de dados miRTarBase 7.0 (Chou et al., 2018). Inicialmente iríamos usar a miRTarBase 7.0 (que possui 502,652 interações em humanos), e DIANA-TarBase v8.0 (135,125 interações em humanos) (Karagkouni et al., 2018). Porém, como a DIANA-TarBase não disponibiliza a fonte dos dados validados na tabela para download, seria impossível a comparação dos estudos para remover os repetidos e utilizar dados validados em pelo menos dois estudos. Portanto, usamos apenas a miRTarBase. Em seguida essa lista de interações, assim como os miRNAs e genes alvos que a compõem, foram submetidos a um programa desenvolvido em C++ e outro desenvolvido em Python para a criação dos módulos maximais de correção, descritos a seguir.

5.5.1. Programas para criação dos módulos maximais de correção

Dos 220 miRNAs associados à placenta e gestação selecionados para a placa, 217 deles possuíam interações validadas em pelo menos dois estudos diferentes, totalizando 10 142 interações com 3 328 genes diferentes.

Assim, os microRNAs selecionados para a placenta e seus alvos foram submetidos a um programa desenvolvido em C++ que, de forma exaustiva, identifica o conjunto maximal de alvos em comum de cada conjunto possível de 2 miRNAs, 3 miRNAs, ..., até n miRNAs, sendo n o número máximo de miRNAs para o qual existe pelo menos um conjunto de n miRNAs com pelo menos um alvo em comum. Estes módulos de correção (conjuntos de miRNAs e seus alvos em comum) são então processados por um programa desenvolvido em Python para garantir que os módulos sejam maximais com relação também aos miRNAs. Isto significa que, se há um módulo de correção (dito maximal) com m miRNAs e um conjunto T de alvos, são descartados quaisquer outros módulos de correção contendo um subconjunto desses m miRNAs e tendo como alvo exatamente o mesmo conjunto T de alvos.

Mais especificamente, para conseguir representar com eficiência de espaço e processar com eficiência de tempo todas as interações possíveis entre miRNAs e genes alvos, o programa, que identifica todos os módulos de correção, utiliza arrays de *bits* (vetores binários) por meio da implementação de *bitsets* da biblioteca *std* de C++. Um *bitset* é

verdadeiramente um vetor (*array*) de *bits* (e não de inteiros ou variáveis booleanas), ou seja, cada posição ocupa de fato somente um *bit* de espaço. Cada miRNA e seus alvos é então representado por um *bitset*, no qual cada posição *j* representa um gene. Para representar todos os *M* miRNAs de entrada e seus alvos, é então utilizado um vetor de *M bitsets*. Então se houver interação entre um miRNA *i* e um gene *j*, colocamos o *bit* 1 na posição *j* do *bitset* da posição *i* do *array* (`vetor[i].set(j)`), e 0 caso contrário (figura 11) assemelhando-se a uma matriz bidimensional de bits. Especificamente neste trabalho, para cada miRNA o *bitset* tem tamanho¹ 3328, que representa o número de genes presentes na rede.

A principal vantagem desta representação é a facilidade e velocidade de cálculo do conjunto de alvos compartilhados por um conjunto de miRNAs. Para um dado conjunto de miRNAs, a interseção de seus alvos é dada pelo produto bit a bit de seus *bitsets* (posição a posição), que fornece um vetor que revela a intersecção de seus alvos, representada assim pelas posições deste vetor produto que são iguais a 1 (figura 11). Esse produto bit a bit, também chamado de AND binário, é uma operação extremamente rápida.

Subsets de miRNAs com no mín 2 miRNAs		gen1	gen2	gen3	gen4	gen5	gen6	gen7	gen8	...	gen3328
miRNA1		1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
miRNA2		1	1	1	1	0	0	1	0	0	1
...											
miRNA 217		1	0	1	1	0	0	1	0	0	1
Multiplicação dos valores da matrix revela a intersecção entre miRNAs e genes para cada módulo		1	0	0	1	0	0	1	0	0	1

Figura 11: Esquema do funcionamento do algoritmo de seleção dos módulos de correção. O mesmo considera pelo menos dois miRNAs agindo em conjunto nos genes. Na imagem é um exemplo com três miRNAs agindo em conjunto em quatro genes.

Em particular para este trabalho, dos módulos criados com pelo menos dois miRs, foram utilizados apenas aqueles com pelo menos três genes alvos em comum, de acordo com o esquema da figura 11, já que este é número mínimo de genes indicado para o enriquecimento.

¹ Este tamanho é definido pelo número de genes dado como entrada do programa.

5.6.2. Seleção dos módulos placentários de regulação

O próximo passo é, a partir dos dados de expressão diferencial de miRNAs em duas condições distintas, selecionar os módulos de correção que poderiam ser de maior interesse de acordo com duas premissas: 1) preferência por um subconjunto em particular de genes alvos (no caso deste trabalho genes expressos em placenta) e 2) preferência por miRNAs diferencialmente expressos (DE) (supra (*up*) ou infra (*down*) regulados) considerando casos e controles (no caso deste trabalho, diferencialmente expressos nos tempos T0 e T1, e comparando intervenção e controles).

Assim, o programa desenvolvido em Python para seleção dos módulos placentários de correção recebe como entrada seis arquivos: um arquivo contendo os módulos maximais de correção, um arquivo contendo os genes alvos de maior interesse (neste trabalho a lista de 3109 genes placentários obtidos da base de dados Tissues 2.0) e quatro arquivos contendo os miRNAs supra e infra regulados, tanto para casos quanto para controles (Quadro 1).

Quadro 1: Arquivos de entrada do algoritmo criado em python para seleção dos módulos placentários.

Arquivos de entrada algoritmo Python
1- "File1" = miRs supra regulados no grupo 1 (caso);
2- "File2" = miRs infra regulados no grupo 1 (caso);
3- "File3" = miRs supra regulados group 2 (controle);
4- "File4" = miRs infra regulados group 2 (controle);
5- "File5" = Grupo de genes de interesse;
6- "File6" = Módulos de correção com pelo menos 2 miRNAs.

Para seleccionar os módulos que serão comparados entre casos e controle, um escore foi criado para ser calculado para cada módulo, o qual leva em consideração a quantidade de genes placentários e miRNAs diferencialmente expressos que fazem parte de cada módulo independentemente do tamanho do módulo inicial (entrada), pois, de acordo com a atividade dos miRNAs, módulos menores (com menos de 50 genes) podem ter significados biológicos tão relevantes quanto os maiores. Inicialmente, esse escore é calculado a partir de uma soma da divisão da quantidade de miRNAs de interesse dividido pela quantidade total de miRNAs, com a divisão da quantidade de genes de interesse pela quantidade total de genes no módulo.

Em seguida, como essa soma de frações explicada no parágrafo anterior é uma normalização e só leva em consideração a proporção, foi utilizado um peso igual ao *log* do número total de miRs e do número total de genes, na base da quantidade mínima de miRNAs ou genes, respectivamente, dando assim maiores escores para módulos maiores, já que 8 miRNAs de interesse de um total de 10 (80% do total), vale mais que 2 miRNAs de interesse de um total de 2 (100% do total). Ademais, foi adicionado também um peso extra para miRNAs e outro para genes, no qual miRNAs valessem mais que os genes, já que estes são advindos do experimento, sendo peso 4 para miRNAs e peso 2 para genes placentários.

Em resumo, o cálculo do escore por módulo foi realizado pela seguinte fórmula:

$$Em = \frac{(Pmi * \log_2(Tmi)) * (Qup + Qdw)}{Tmi} + \frac{(Pplac * \log_3(Tg)) * Qplac}{Tg}$$

na qual Em = Escore do módulo, Pmi = Peso dos miRs, Tmi = Número total de miRs, Qup = Quantidade de miRNAs supra regulados do grupo, Qdw = quantidade de miRNA infra regulado do grupo, Pplac = peso dos genes placentários, Tg = Número total de genes, Qplac = quantidade de genes placentários para cada módulo. No algoritmo esta fórmula é executada para cada módulo, e com os respectivos valores de Qup e Qdw para cada grupo. Lembrando que Qup e Qdw representam todos os miRNAs DE da entrada.

O programa fornece como saída dois arquivos, um para caso e outro para controle contendo todos os módulos que tenham pelo menos dois miRNAs diferencialmente expressos (DE) no experimento e pelo menos um gene placentário.

Neste trabalho, havia sido planejado utilizar esses quatro últimos arquivos advindos dos miRNAs DE na análise do *TaqMan Advanced miRNA Human Serum/Plasma* com $p < 0.05$ dentre os quais os miRNAs *up* regulados seriam os mais expressos no T1 e os *infra* regulados os mais expressos no T0. Todavia, tais experimentos ainda não foram finalizados (vide seção 6.2).

Assim, para testar os programas propostos nesta abordagem, foram gerados e utilizados dados fictícios de expressão de miRNA a partir dos 217 miRNAs da placa, onde foram selecionados 64 miRNAs para caso e 64 para controle, sendo metade deles considerados *supra* regulados e *infra* regulados, com o cuidado que os miRNAs de cada situação são diferentes, já que é impossível o mesmo miRNA estar *supra* e *infra* regulado para o mesmo indivíduo. Além disso, foram utilizados os genes placentários (obtidos da Tissues2.0, num total de 3109 genes) e os módulos de correção obtidos anteriormente.

5.7. Análises e Comparação dos módulos

Após a elaboração dos módulos placentários, estes foram comparados para obter a diferença entre casos e controles. Essa comparação foi direta, para ver quais módulos estavam presentes só em caso e quais só em controle com o objetivo final de enriquecer apenas os módulos que se apresentaram diferentes.

Para tal comparação, os módulos então que saíram do programa de seleção e ranqueamento de módulos placentários em Python para casos e para controles foram

ordenados por escores e em seguida foram obtidos os 5% módulos com maiores escores. Estes 5% de caso e 5% de controle, foram os módulos comparados.

Ainda, para testar uma relação entre os miRNA que são diferentes (dentro dos DE) entre casos e controles e os módulos diferentes ao fim do programa, e porque espera-se que a intervenção psicossocial provocará uma diferença sutil na diferença de miRNAs DE entre casos e controles, foram realizados seis testes. Assim, com um total de 64 miRNAs DE aleatoriamente selecionados da placa, foi testada a quantidade de módulos da saída quando 2 (3.125%), 4 (6.25%), 8 (12.5%), 16 (25%) ou 32 (50%) deles eram diferentes entre casos e controles.

5.7.1. Enriquecimento de vias e processos biológicos

Dois arquivos foram gerados com a comparação dos 5% de casos e controles, um contendo os módulos só presentes em Caso e o outro, os só presente em Controles. A comparação dos módulos foi feita a partir da análise de enriquecimento processos biológicos e vias metabólicas dos genes alvo, por módulos diferente, com uso de Gene ontology, KEGG e Reactome para cada módulo da rede, e assim obter uma conclusão mais completa do papel dos microRNA em resposta a intervenção psicossocial. O pacote utilizado para o enriquecimento foi o clusterProfiler no R, o qual utiliza a *library ggplot* do R para formar gráficos representativos dos resultados (Yu G et al., 2012).

6. Resultados

6.1. Caracterização da amostra coletada

O quadro 2 nos mostra que não havia diferença estatística entre grupos baseada nas informações coletadas das mães no T0 (8 à 16 semanas) ou *baseline*.

Quadro 2: Caracterização das amostras do *baseline*. Resultado do teste t para amostras paramétricas e wilcoxon para não paramétricas. Não foi encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa pois os *p* valores foram todos acima de 0,05.

	Controle			Intervenção			
	Baseline						
	n = 36	%	média (SD)	n = 38	%	média (SD)	P valor
Escolaridade							0,712
Peso pré-gestacional			57,6			58,3	0,795
Beck Depression Inventory			11,7			13,0	0,482
Beck Anxiety Inventory			9,4			11,4	0,238
Ingestão de álcool			13,0			15,0	0,815
Tabaco			6,0			10,0	0,402
Renda Familiar:							0,712
1 a 3 salários mínimos	7	19,4%		9	25%		
4 a 6 salários mínimos	26	72,3%		24	66,7%		
7 ou mais salários mínimos	3	8,3%		3	8,3%		

6.2. Módulos de correção miRNA-mRNA

Após a aplicação do programa para criação dos módulos de correção com o conjunto total de miRNAs da placa e seus alvos, foram obtidos no total 359 274 597 módulos com de 2 a 28 miRNAs e com um a 281 genes (tabela 1). Considerando apenas os módulos com pelo menos dois alvos, foram 198 358 módulos e após a remoção dos módulos menores redundantes (módulos no quais todos seus miRNAs já estavam representados em módulos maiores que eles) sobraram 11 813 módulos maximais. Nesses módulos, a quantidade de alvos variou de dois a 281 genes e a de miRNAs de dois a 14 por módulo. Após retirar os

módulos com apenas dois genes para poder considerá-los para o enriquecimento, sobraram 6019 módulos com dois a 13 miRNAs. Módulos com mais de 15 miRNAs regulam apenas um alvo, e não foram incluídos nas nossas análises. A tabela 1 mostra uma comparação entre a quantidade de módulos redundantes e não redundantes com um ou dois na intersecção.

Tabela 1: Quantidade de módulos gerados pelo programa em C++ e Python. A tabela traz módulos redundantes e não redundante, com um ou dois genes alvos e a quantidade de miRNAs e alvos desses módulos. Nr = número. NR = Não Redundantes.

Nr de miRNAs	Redundantes			Não redundantes	
	Nr total de módulos de miRNAs	Nr total de módulos de miRNAs (>1 alvos)	Nr máximo de alvos na intersecção	Nr de módulos NR (>1 alvos)	Nr máximo de alvos na intersecção (NR)
2	7281	3445	281	979	281
3	43920	9718	273	9707	273
4	186220	21284	266	235	266
5	616139	34511	265	156	265
6	1683547	14915	218	196	218
7	3950264	12435	72	228	107
8	8130483	7970	71	90	105
9	14818311	37781	69	81	69
10	23988664	1310	41	58	41
11	34498912	1773	7	52	7
12	44032765	367	4	18	3
13	49809588	48	4	9	4
14	49851115	3	2	3	2

Decorrente da criação dos módulos, também foi verificado se todos os miRNAs da placa se ‘modularizaram’ e ainda a relação entre a quantidade de interações (alvos) que cada miRNAs da entrada tem com a quantidade de módulos de saída que um determinado miRNAs estava presente.

Foi constatado que, incluindo os módulos com no mínimo dois genes alvos, 198 dos 217 miRNAs (~91.244%) de entrada estavam presentes em pelo menos um módulo (sendo 12 deles em apenas um - miR-451a, miR-370-3p, miR-518f-3p, miR-517a-3p, miR-6845-5p, miR-526b-5p, miR-22-5p, miR-518b, miR-517b-3p, miR-381-5p, miR-433-5p,

miR-181a-2-3p), o que indica uma possível atividade de correção entre quase todos (senão todos já que módulos com apenas um gene foram excluídos dessas análises) miRNAs. Além desses miRNA presentes em apenas um módulo, os 10 miRNAs presentes em mais módulos tinham de 151 a 334 interações e participavam de 817 à 1983 módulos (figura 12). Uma tabela completa com todos os miRNAs e a quantidade de módulos e interações está disponível nos apêndices (apêndice 4).

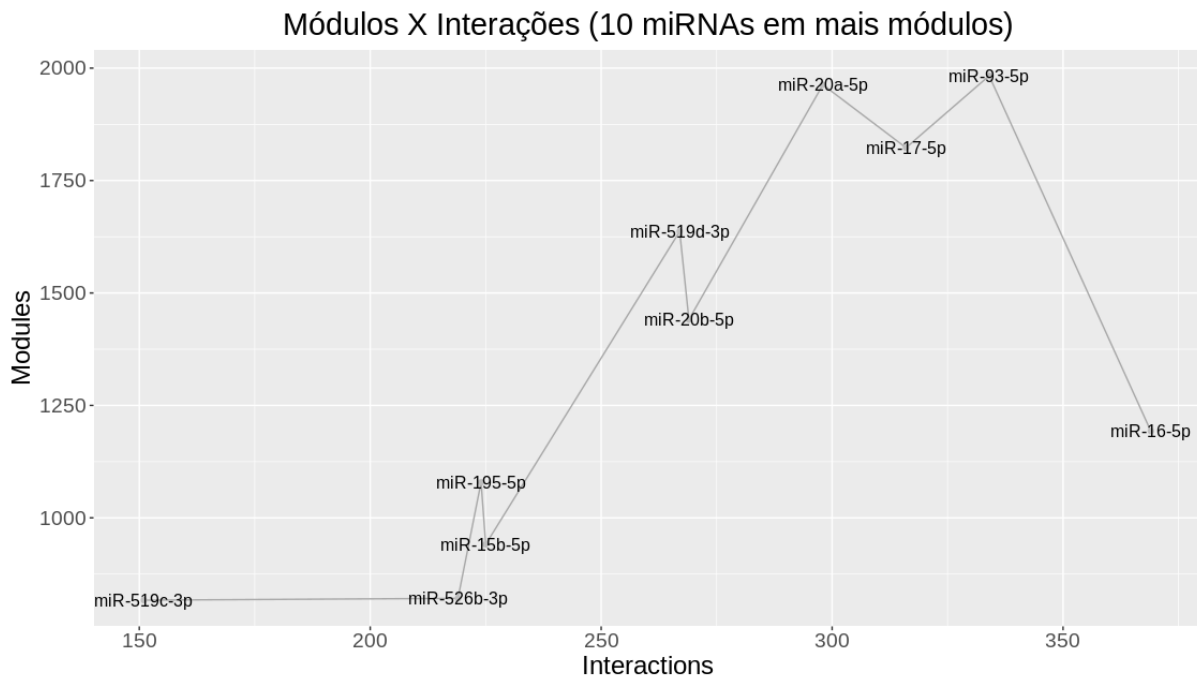


Figura 12: Gráfico mostrando a relação de quantidade de módulos (saída) e interações (entrada) para cada miRNA que modulariza. A figura mostra os 10 miRNAs mais presentes nos módulos.

Adicionalmente, por mais que se espere que os miRNAs que possuam mais alvos participem de mais módulos, essa relação não foi 100% linear como se esperava, sendo o miRNA-362-3p o que visualmente mais se afastou da linearidade já que esse miRs possuía 262 interações mas só estava presente em 108 módulos (figura 13a e apêndice 4).

Em contrapartida, usando correlação de *spearman* para a relação não linear, podemos observar uma alta correlação positiva de ~ 0.88 e o gráfico utilizando log nos eixos x e y (log-log) se aproxima mais de uma relação linear quando comparado ao gráfico com os valores absolutos (figura 13b).

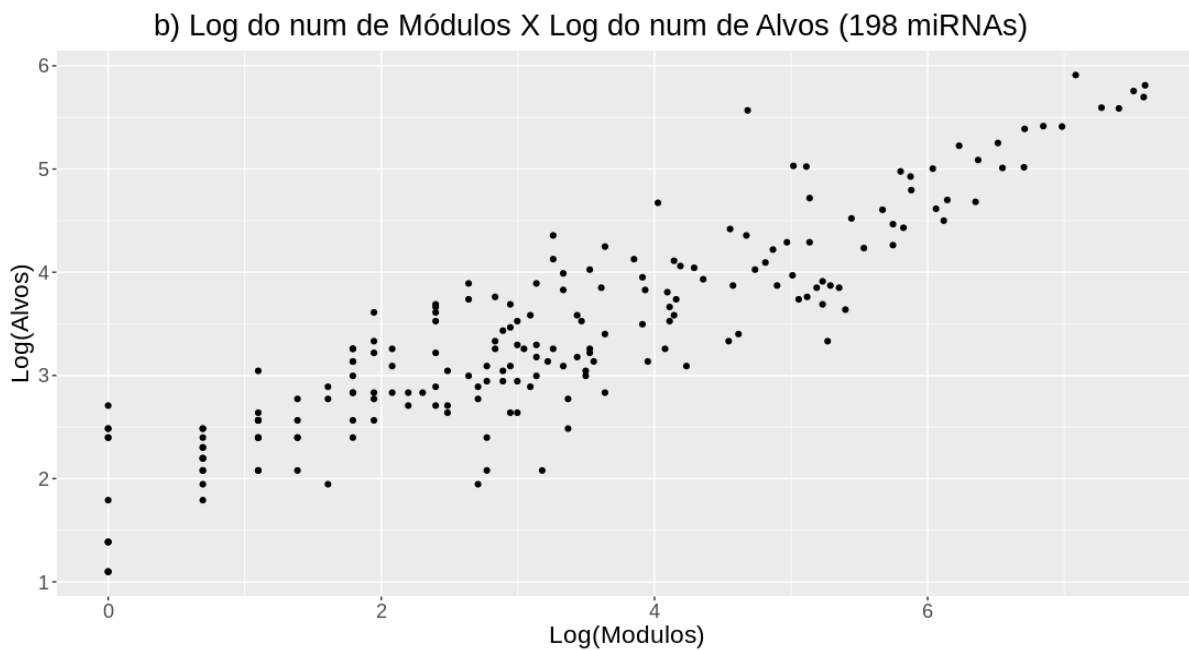
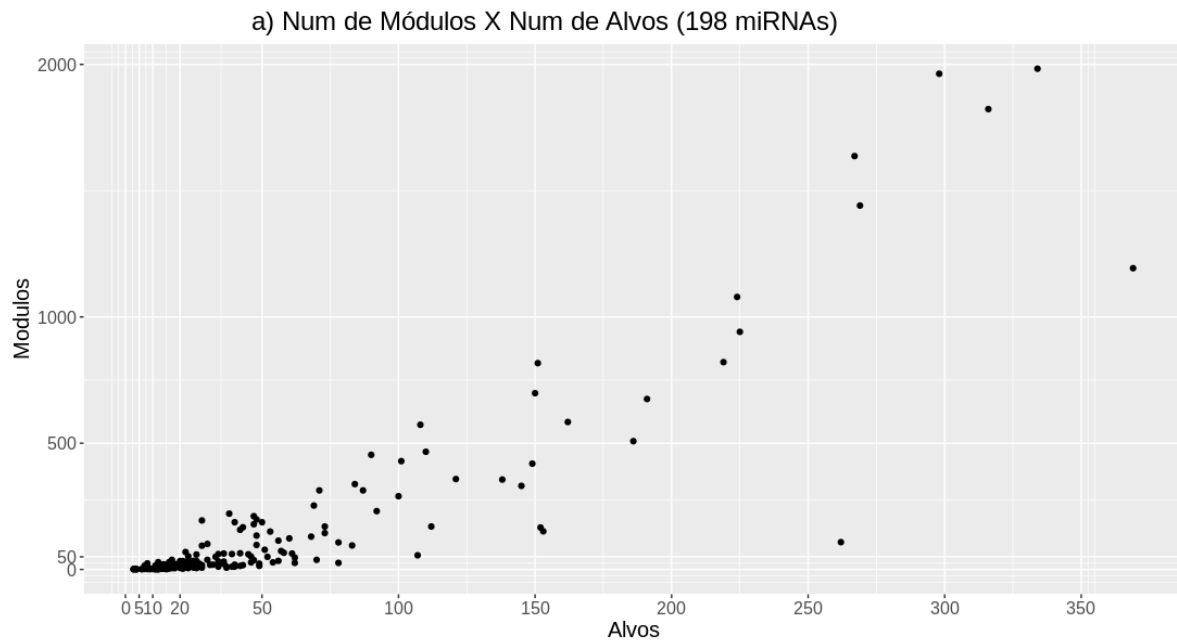


Figura 13: Gráficos da mesma relação entre a quantidade de módulos como saída do programa e número de interações de cada miRNA em números absolutos (a) e em power law (b). Os gráficos mostram que essa relação não é perfeitamente linear e por isto, os miRNAs com mais alvos não necessariamente estão presentes numa quantidade maior de módulos, mesmo que haja uma alta correlação positiva melhor observada no gráfico b.

6.2.1. Seleção dos módulos placentários

A partir daqui, o programa criado necessita de dados de expressão reais, e como explicado nos métodos e na seção 6.2, os experimentos não conseguiram ser finalizados até o presente momento, nos obrigando a usar dados fictícios de expressão diferencial de miRNAs, dentre os miRNAs da placa.

Para a filtragem dos módulos placentários, foram considerados os grupos de miRNAs DE (diferencialmente expressos) que tinham quatro miRNAs na entrada diferenciando casos e controles (por exemplo dois miRNAs Up diferentes e dois Down). Na filtragem dos módulos para a busca daqueles que possuem pelo menos dois miRNAs DEs e um gene placentário, houve uma diminuição de 11 813 módulos da entrada (com no mínimo dois miRs e dois genes no total), para 184 de módulos para caso e 407 para controle quando consideramos no mínimo três genes.

A saída do algoritmo em Python é um arquivo em .tsv que contém nove informações ou colunas (quadro 3) contendo todas as informações necessárias para posterior análises dos módulos destacada em negrito na figura 14.

Neste saída, além das informações quantitativas, como score e quantidade de miRNAs e genes pertencentes ou não aos grupos de DEs ou placenta respectivamente, temos quais dos miRNAs e genes de cada módulo são DEs ou placentários logo após o fator genético (o miRNA ou o gene) em questão. Para miRNAs, “0” representa miRNAs não DEs, “1” miRNAs infra regulados e “2” miRNAs supra regulados. Para genes, “0” são para genes não placentários e “1” para genes placentários.

Score: **10.394** miRNA UP: **2** miRNA DOWN: **3** Total miRNAs: **6**
miRNAs: **hsa-miR-15b-5p**, **hsa-miR-16-5p**, **hsa-miR-20a-5p**, **hsa-miR-20b-5p**, **hsa-miR-526b-3p**, **hsa-miR-93-5p**
Genes placentários: **4** Genes não placentários: **5**
Genes: **ACTR2**, **ARHGAP12**, **CCND1**, **ELK4**, **FO XK1**, **HSPA8**, **KIF23**, **NUFIP2**, **SHOC2**

['9', 'hsa-miR-20a-5p', 'hsa-miR-93-5p', 'hsa-miR-16-5p', 'hsa-miR-15b-5p', 'hsa-miR-20b-5p', 'hsa-miR-526b-3p', 'ELK4', 'HSPA8', 'FO XK1', 'ACTR2', 'NUFIP2', 'ARHGAP12', 'SHOC2', 'KIF23', 'CCND1']

Legenda de cores:






 miRNAs não DE “0”	 Genes não placentários “0”
 miRNAs infra regulados “1”	 Genes placentários “1”
 miRNAs supra regulados “2”	

Figura 14: Esquema representando a saída do algoritmo em Python. Em negrito a representação da real saída do programa. “miRNA UP” representa a quantidade de miRNAs supra regulados e “miRNA DOWN” de infra regulados. As cores são representativas, as quais são na realidade definidas pelos valores “0”, “1” ou “2” que seguem o fator genético de acordo com a legenda de cores.

Quadro 3: Quadro com as nove saídas do programa criado em Python.

Colunas do arquivo em .tsv (saída do algoritmo de seleção de módulos placentários)
1- Escore dos módulo;
2- Quantidade de miRNAs supra regulados no módulo;
3- Quantidade de miRNAs infra regulados no módulo;
4- Total de miRNAs no módulo;
5- Lista de miRNAs seguida de um valor que diga que ele e Up, down ou não expresso (0= não expresso, 2= supra regulado, 1= infra regulado);
6- Quantidade de alvos tecido-específicos;
7- Quantidade de alvos não tecido-específicos;
8- Lista dos alvos com um valor seguido que indique se são ou não placentários (0= não placentário, 1= placentário);
9- Módulos Iniciais com pelo menos 2 miRNAs DE e um gene placentário (em .csv).

É possível visualizar os módulos placentários em uma rede maior contendo miRNAs que agem em conjunto e todos seus possíveis alvos identificados na miRTarBase (em no mínimo dois estudos). Nessa comparação, todos os genes que pertencem a um módulo placentário (destacados em colorido na figura 15), estão conectados a todos os miRNAs da rede representada na figura 15, já que a mesma foi criada a partir dos miRNAs de um módulo e todos os seus possíveis genes. A figura 14 também mostra, pela diferença das cores, quais miRNAs são supra regulados (verdes), infra regulados (vermelhos) ou não foram DE (azuis) no módulo, e quais genes são placentários (laranjas) e quais não (amarelos).

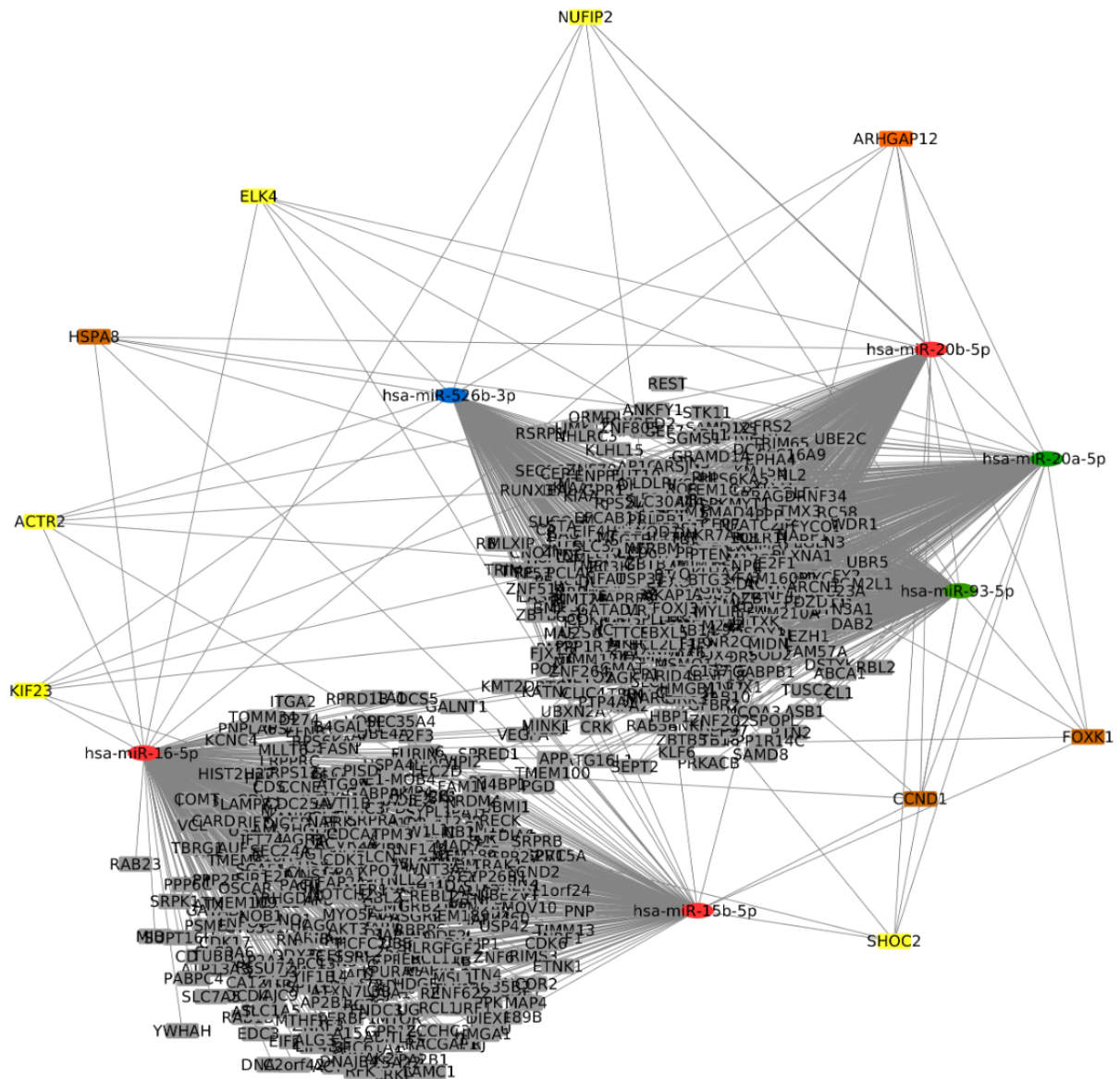


Figura 15: Representação de um módulo em uma rede com todos os alvos de miRNAs presentes no módulo. Os miRNAs são ovais (seis) e os genes quadrados (nove). Em colorido estão todos os genes que ligam a todos miRNAs da rede (representando assim um módulo). Vermelho = miRNAs infra regulados; Verde = miRNAs supra regulados; Azul = miRNAs não DE; Amarelo = genes não placentários; Laranja = genes placentários. É possível observar que todos os nove genes coloridos (pertencentes ao módulo em destaque) possuem seis arestas, pois estão ligados aos seis miRNAs coloridos

6.2.2. Módulos diferentes

Nas análises teste, os 5% dos módulos placentários com maior escore, com no mínimo três genes, retornaram quantidades diferentes de módulos a depender da quantidade

de miRNAs imputados que estavam diferentes entre caso e controle. Esta quantidade foi controlada para 2, 4, 8, 16 e 32 miRNAs diferentes entre os grupos como explicado nos métodos.

Como explicado nos métodos, utilizando os dados fictícios de miRNAs DE, foi também realizada uma análise para testar a correlação entre a quantidade de miRNAs da entrada diferentes entre casos e controles e a quantidade de módulos diferentes na saída do programa (figura 16). Esta análise mostrou que quanto maior a quantidade de miRNAs diferentes entre casos e controles, maior a quantidade de módulos diferentes ao fim, menos para 8 e 16 miRNAs diferentes que apresentou uma quantidade similar de módulos ao fim (já que foram obtidos 28 módulos para 8 miRNA diferentes, e 26 para 16).

Do total de 11 813 módulos NR e 64 miRNAs DE (entrada) os 5% com maior escore retornaram:

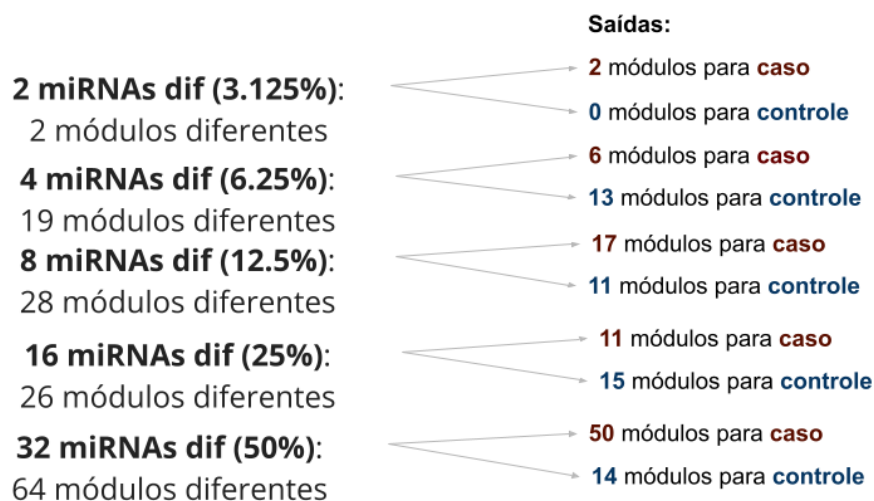


Figura 16: Utilizando apenas os miRNAs DEs (Diferencialmente Expressos) nos dois tempos, o esquema representa os dados teste de miRNA diferentes na entrada e a quantidade de módulos na saída. A figura mostra a quantidade de miRNAs diferentes entre casos e controles (“miRNAs dif”) na entrada do programa, e quantos módulos não redundantes exclusivos ou para casos ou para controles retornaram na saída do programa. A quantidade de módulos não redundantes variou de 2 a 64.

A comparação da porcentagem de módulos na saída do programa, em relação aos da entrada para os dois casos, utilizando módulos redundantes e não redundantes se mostraram similares como visto nas linhas do gráfico da figura 17.

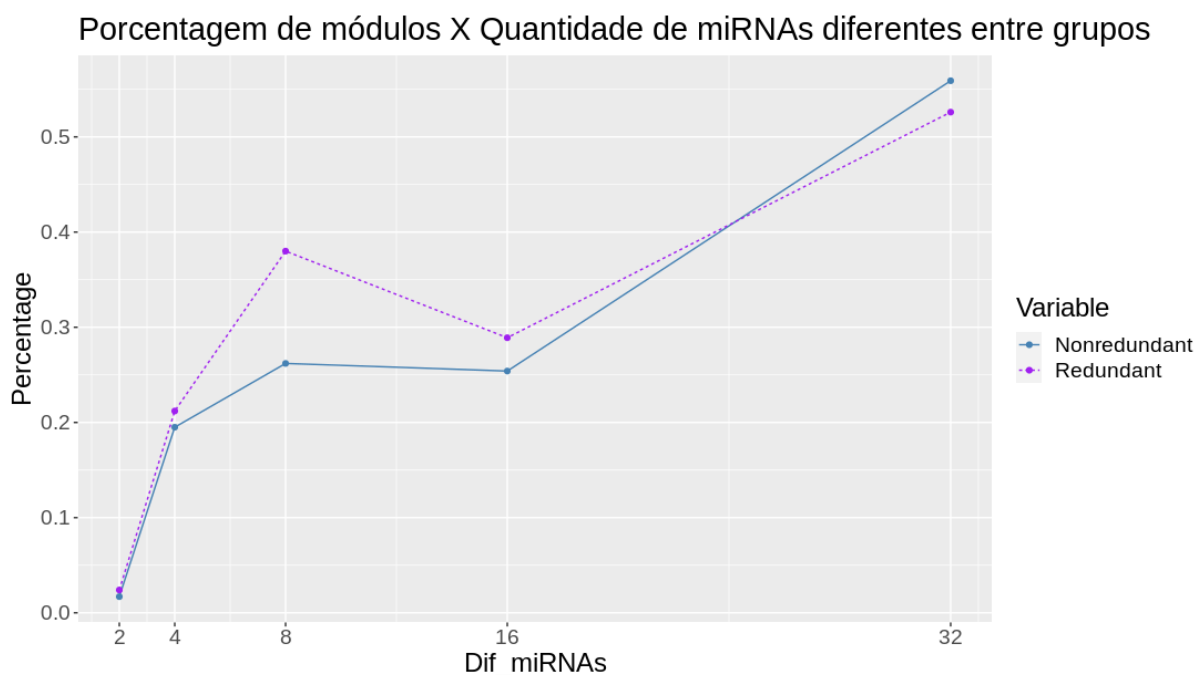


Figura 17: Gráfico da porcentagem de módulos redundante e não redundantes para cada input de miRNAs. As curvas demonstram para módulos redundantes (linha pontilhada roxa) e não redundantes (linha azul) a porcentagem dos módulos na saída que contém pelo menos dois miRNAs DE e dois genes placentários para cada simulação com as entradas testes (2, 4, 8, 16 e 32). As porcentagens em relação ao total de módulos redundantes (198 359) e não redundantes (11 813) variaram de 0.024% a 0.559%.

Já que foram obtidas quantidades bem diferentes de módulos placentários presentes apenas em casos ou em controles, foi criado um gráfico de linhas que serve como uma representação dos valores reais, pois os miRNAs foram aleatoriamente selecionados como DE e não advindos de dados experimentais. Sendo assim, a quantidade de módulos para casos e controles ao fim pode ou ser mais próxima ou se distanciar ainda mais. Todavia, a figura 18 mostra que há uma tendência de diferenciação entre casos e controles, já que mostra que existem muito mais módulos para serem submetidos ao enriquecimento em um dos grupos, podendo ainda esses módulos estarem relacionados a vias ou processos biológicos similares.

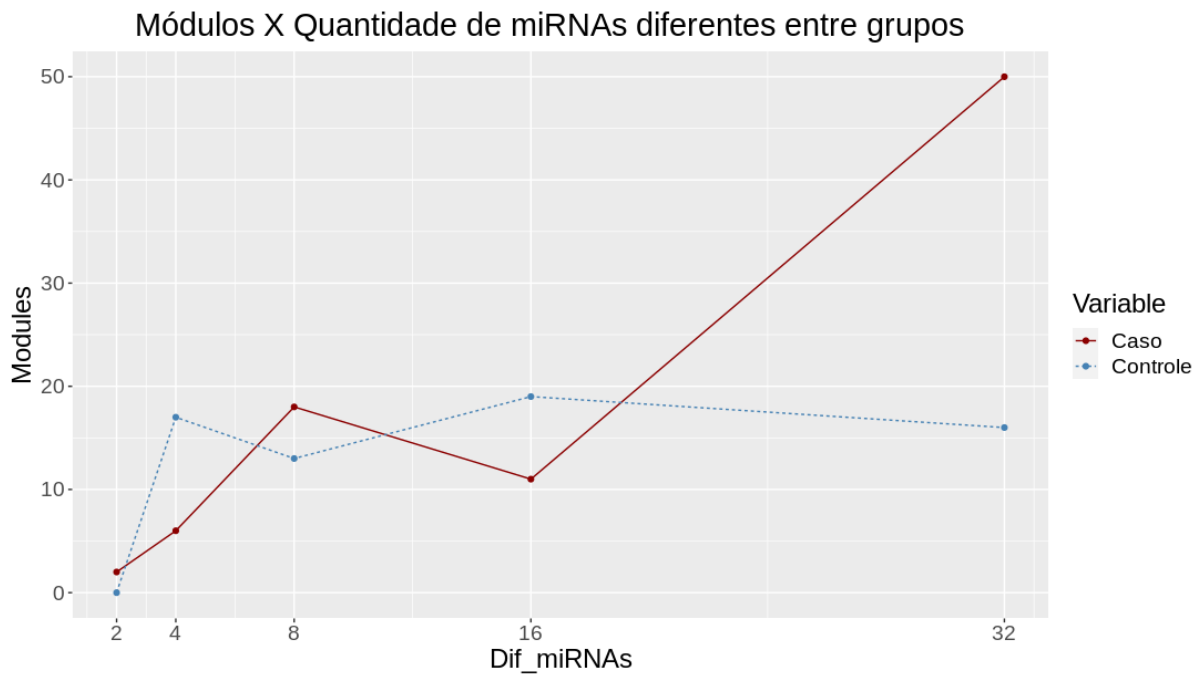


Figura 18: Gráfico de linhas comparando a quantidade de módulos de casos versus controle da saída. As linhas mostram a quantidade de módulos na saída para casos e controles para as entradas com as quantidades de miRNA diferentes usadas (2, 4, 8, 16 e 32) considerando apenas os módulos não redundantes. Foram obtidas quantidades de módulos diferentes para casos e controles.

6.2.3. Enriquecimento dos módulos diferentes

Com o objetivo de mostrar como o enriquecimento dos dados reais será realizado, usamos os genes de alguns dos módulos da nossa saída para realizar o enriquecimento e demonstrar todos os possíveis gráficos que o algoritmo *Clusterprofiler*, adaptado pelo grupo gera. O Cluster Profiler gera dois tipos de gráficos, um de vias (*pathways*) (figura 19) e um de barras (*upset*) (figura 20) para cada base de dados (KEGG, GO ou Reactome) que foi encontrado enriquecimento para os genes em questão.

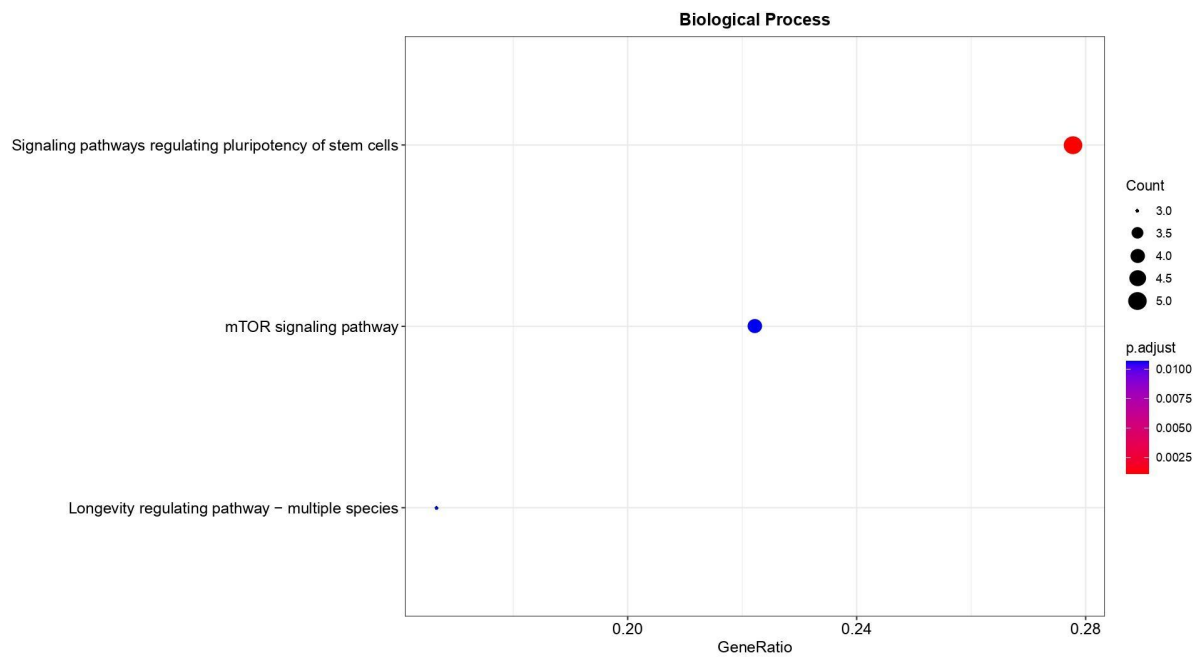


Figura 19: Gráfico de vias. A figura mostra 3 vias associadas a um grupo de genes. O tamanho dos círculos representa a quantidade de genes participantes da via (*Count*) e a cor desses, o *p value* ajustado (*p.adjust*) que indica o quanto aqueles genes estão associados à via correspondente.

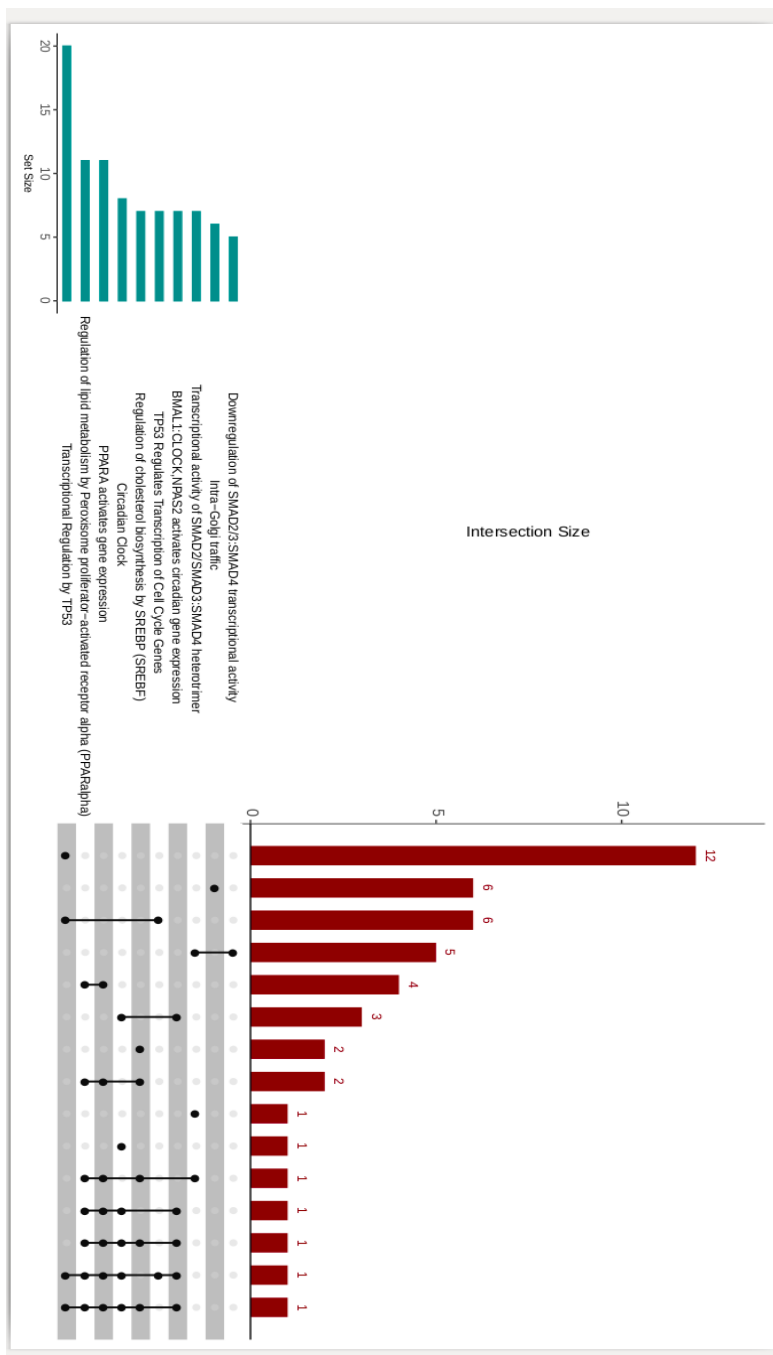


Figura 20: Gráfico que mostra a interseção de genes entre diferentes vias. A figura demonstra o enriquecimento de genes pelo Reactome, na qual foi usado um grupo de genes teste. 47 Dentre esses genes teste participam de alguma via presente na base de dados. As barras em vermelho representam a quantidade de genes relacionados a cada via (círculos pretos abaixo do gráfico indicam a via), e as verdes representam quantos genes no total há em cada via para o cluster.

7. Discussão

Nossa proposta com sucesso resolveu dois problemas encontrados atualmente na literatura para criação e análise de redes de miRNA-mRNA: 1- A identificação dos alvos não experimentais de uma forma segura e tecido-específica; 2- A análise e comparação de redes bipartidas de miRNAs-mRNAs levando em consideração propriedades biológicas da ação de miRNAs.

Em animais, um miRNA regula vários alvos e o mesmo alvo pode ser regulado por vários miRNAs diferentes, caracterizando as atividades de cooperação, competitividade e compensação dos miRNAs, as quais necessitam da sua devida atenção. Até o presente momento, estudos têm mostrado que miRNAs em animais estão sempre, ou quase sempre corregulando alvos e assim como em (Xue et al., 2017), nossas análises também indicam que miRNAs agem quase sempre em cooperação, compensação ou competição já que 198 (91%) dos 217 miRNAs da placa, que serviram como entrada do algoritmo em C++, formaram módulos com outros miRNAs interagindo com pelo menos dois genes.

Adicionalmente, evidenciamos que miRNAs que têm mais alvos não necessariamente irão se modularizar mais. Isto por que não encontramos uma relação linear entre a quantidade de alvos que um miRNA regula com a quantidade de módulos que este mesmo miRNA participa, o miR-362-3p, o 410-3p e o 433-5p por exemplo tem muitos alvos (262, 107 e 78 respectivamente) mas participam de uma quantidade consideravelmente menor de módulos (108, 56 e 26 respectivamente).

Diferente dos métodos de análise de redes existentes como discorrido na introdução, nosso método utilizou uma maneira de selecionar módulos que leva em consideração a biologia ao invés de apenas machine learning para seleção de características ou outro algoritmo matemático. Isto ocorre porque os ‘módulos placentários’ são selecionados a partir de primeiramente uma busca exaustiva de todos os módulos possíveis baseado em miRNAs e suas interações validadas. Em seguida, os módulos placentários são selecionados pela presença dos miRNAs DEs (entre os dois grupos de estudo) e dos genes de interesse nesses módulos.

A ferramenta criada é a primeira que usa um algoritmo exaustivo e não redundante na busca de módulos de corregulação miRNA-gene e que identifica módulos diferentes entre dois grupos. Isto torna inviável a comparação do método criado com os métodos encontrados

na literatura até o momento. Além disso, os métodos de análises de rede existentes para miRNAs (PUMA (Kuijjer et al., 2020) por exemplo) precisam de duas redes separadamente como entrada e o usuário depois procura diferenças nas análises, enquanto a nossa ferramenta, a partir de uma rede contendo todas as possíveis interações, retorna módulos de miRNAs-genes diferentes para cada grupo, os quais seus genes podem então ser submetidos a um enriquecimento ou analisados da forma desejada.

Outra importante inovação do nosso método, relacionado ao que vem sendo feito até agora na análise de expressão diferencial, é que ele pode nos dar muito mais informações biológicas sobre a expressão de miRNAs (ou fatores genéticos de interesse). Isto é possível por que nosso método aborda a expressão diferencial de miRNAs num mesmo indivíduo em duas situações (seja tempo, tratamento *versus* não tratamento ou outras) para dois grupos (casos e controles por exemplo), e por isto o mesmo exige quatro amostras como entradas. Consequentemente, nosso método pode ser usado em qualquer situação que envolva essas quatro amostras como entrada, sendo necessário apenas a mudança da base de dados de genes específicos e, claro, os dados experimentais de miRNAs. Da mesma forma, podem ser privilegiados grupos de genes alvos de qualquer interesse do usuário, não apenas placentários.

Além disso, ainda que mais testes precisem ser feitos com dados de expressão real, nossos resultados mostram que uma mudança sutil na quantidade de miRNAs diferentes entre casos e controles, reflete em uma mudança entre módulos de casos e controles (apenas dois ou quatro miRNAs resultaram em dois e 19 módulos não redundantes diferentes respectivamente). Assim, em situações como intervenção psicossocial, na qual espera-se uma diferença pequena de miRNAs DE entre grupos, é possível identificar módulos diferentes e possíveis vias, e processos biológicos relacionados aos grupos após o enriquecimento.

Assim, além de servir para estudos de intervenção psicossocial, o método criado também serve para identificar diferenças sutis entre dois grupos já que, na análise controlada para todas as cinco porcentagens de miRNA diferentes (entre casos e controles), foram obtidos módulos para serem analisados na saída.

Adicionalmente, nos nossos testes, como não foi encontrada uma relação diretamente linear entre a quantidade de miRNAs diferentes na entrada e de módulos na saída (figura 17), a teoria é que a composição dos módulos seja mais importante do que a quantidade de miRNAs distintos entre casos e controles na entrada do programa. Em outras palavras, como

alguns miRNAs tendem a se modularizar mais, ou por viés de estudos (e assim ter muito mais alvos destes nas bases de dados), ou possivelmente por serem mais “promíscuos”, a diferença na composição iniciais destes miRNAs de entrada distintos entre casos e controles podem ser mais importantes na formação dos módulos.

Outro fator importante, é que nossa metodologia dispensa a necessidade de valores de expressão dos mRNAs nos indivíduos de estudo, pois ela utiliza alvos validados e tecido-específicos para resolver este problema. Entretanto, a inserção de outras informações, como as sequências do miRNAs e seus sítios alvos nos mRNAs ou do efeito biológico do miRNA, possibilitaria prever quais miRNAs dos módulos agem em competição/ cooperação, ou em compensação respectivamente. Sendo estas possíveis medidas para aperfeiçoar o algoritmo criado no futuro.

Ademais, assumindo que só usamos módulos com no mínimo dois genes na modularização dos miRNAs, é possível que se considerar os módulos com apenas um gene, todos os miRNAs (217) de entrada, não apenas os 198, se modularizem. O que mesmo que não seja possível fazer análise de enriquecimento dos genes desses módulos, pode ser uma informação útil para as análises dos miRNAs.

Apesar de ainda não ter sido possível testar o método criado com dados reais de expressão, é esperado achar diferenças de expressão e consequentemente de módulos de miRNAs que diferenciam casos e controles, já que três outros estudos do nosso grupo já encontraram diferenças utilizando as mesmas amostras que estamos trabalhando. Dentre essas, foi evidenciado uma menor aceleração da idade metilômica no grupo intervenção comparado ao não intervenção e também a metilação do DNA em diferentes regiões mediou a associação entre intervenção e uma resposta cognitiva (Euclides et al., 2022). Outro estudo revelou um efeito positivo da intervenção no desenvolvimento da expressão de linguagem nas crianças, na responsividade emocional/verbal das mães e oportunidades para variedades na estimulação diária (Fatori D et al. 2021). E um outro estudo que avaliou a prole, constatou que crianças com 12 meses do grupo intervenção estavam mais apegadas e envolvidas com suas mães quando comparadas ao grupo controle (Alarcão et al., 2021).

8. Conclusão

Este trabalho apresentou uma ferramenta para a busca de módulos de miRNA e de diferenças entre os grupos de estudos. Ele ainda trouxe informações valiosas para o estudo de miRNAs como a alta porcentagem de modularização destes (91%), o que reforça o nosso atual conhecimento que um miRNA raramente age sozinho em um gene.

Por fim, ainda que não foi possível mostrar o funcionamento do método com dados reais e obter uma conclusão sobre a intervenção psicossocial devido a atrasos decorrentes da pandemia, a dissertação apresentada traz a criação de um método inédito de análise de miRNAs para duas situações por indivíduo em dois grupos.

9. Referências

- Alarcão FSP, Shephard E, Fatori D, Amável R, Chiesa AM, Fracolli L, Matijasevich A, Brentani H, Nelson CA, Leckman J, Miguel EC, Polanczyk GV. Promoting mother-infant relationships and underlying neural correlates: Results from a randomized controlled trial of a home-visiting program for adolescent mothers in Brazil. *Dev Sci*. 2021;1–12. doi: 10.1111/desc.13113
- Almohammadi D, Casper J, Elfeky O, Chang C, Scholz-Romero K, Longo S et al. C19MC miRNA Signatures of Placenta-Derived Exosomes in Women Diagnosed with Gestational Diabetes Mellitus. *Endocrine Society's 98th Annual Meeting and Expo, Boston, 2016*.
- Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, Dreyfuss G, Eddy SR, Griffiths-Jones S, Marshall M, Matzke M, Ruvkun G, Tuschl T. A uniform system for microRNA annotation. *RNA*. 2003 Mar;9(3):277-9. doi: 10.1261/rna.2183803.
- Amirkhah R, Meshkin HN, Farazmand A, Rasko JEJ, Schmitz U. Computational and Experimental Identification of Tissue-Specific MicroRNA Targets. *Methods Mol Biol*. 2017;1580:127-147. doi: 10.1007/978-1-4939-6866-4_11.
- Arikawa E, Sun Y, Wang J, Zhou Q, Ning B, Dial SL, Guo L, Yang J. Cross-platform comparison of SYBR Green real-time PCR with TaqMan PCR, microarrays and other gene expression measurement technologies evaluated in the MicroArray Quality Control (MAQC) study. *BMC Genomics*. 2008 Jul 11;9:328. doi: 10.1186/1471-2164-9-328.
- Arvey A, Larsson E, Sander C, Leslie, CS, Marks DS. Target mRNA abundance dilutes microRNA and siRNA activity. *Mol Syst Biol*. 2010 Apr 20;6:363. doi: 10.1038/msb.2010.24.
- Assenov Y, Ramírez F, Schelhorn SE, Lengauer T, Albrecht M. Computing topological parameters of biological networks. *Bioinformatics*. 2008 Jan 15;24(2):282-4.
- Atif N, Nazir H, Zafar S, Chaudhri R, Atiq M, Mullany LC, Rowther AA, Malik A, Surkan PJ, Rahman A. Development of a Psychological Intervention to Address Anxiety During Pregnancy in a Low-Income Country. *Front Psychiatry*. 2020 Jan 10;10:927. doi:10.3389/fpsy.2019.00927. eCollection 2019.
- Babenkoab O, Kovalchukb I, Metz GAS. Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. 2015; 48: 70-91.
- Bale T L. Epigenetic and transgenerational reprogramming of brain development. *Nat Rev Neurosci*. 2015 Jun;16(6):332-344.
- Barabási A-L. *Scale-Free Networks: A Decade and Beyond Science*. Vol 325, Issue 5939, pp. 412-413, 2009.
- Barker DJP. Fetal origins of cardiovascular disease. *Ann Med*. 1999;31(sup1):3-6.
- Barrat A, Barthelemy M, Vespignani A. *Dynamical processes on complex networks*. Cambridge University Press, 2008.

Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, 2004; 116(2): 281–297.

Bastos EP, Brentani H, Pereira CAB, Polpo A, Lima L, Puga RD, Pasini FS, Osorio CABT, Roela RA, Achatz MI, Trapé AP, Gonzalez-Angulo AM, Brentani MM. A Set of miRNAs, Their Gene and Protein Targets and Stromal Genes Distinguish Early from Late Onset ER Positive Breast Cancer. *PLoS One*. 2016 May 6;11(5):e0154325.

Beckett SJ. Improved community detection in weighted bipartite networks Stephen J. Beckett. *R Soc Open Sci*. 2016 Jan 20;3(1):140536.

Bergman K, Sarkar P, Glover V, O'Connor TG. Maternal prenatal cortisol and infant cognitive development: moderation by infant-mother attachment. *Biol Psychiatry*. 2010; 67(11): 1026-1032.

Betel D, Wilson M, Gabow A, Marks DS, Sander C. The microRNA.org resource: targets and expression. *Nucleic Acids Res*. 2008 Jan; 36(Database issue): D149–D153. doi: 10.1093/nar/gkm995

Biggs N, Lloyd E, Wilson R. *Graph Theory, 1736–1936*. Oxford University Press. (1986).

Bissels U, Wild S, Tomiuk S, Holste A, Hafner M, Tuschl T, Bosio A. Absolute quantification of microRNAs by using a universal reference. *RNA*. 2009 Dec; 15(12): 2375–2384. doi: 10.1261/rna.1754109

Blondal T, Nielsen SJ, Baker A, Andreassen D, Mouritzen P, Teilum MW, Dahlsveen IK. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods*. 2013 Jan;59(1):S1-6. doi: 10.1016/j.ymeth.2012.09.015. Epub 2012 Oct 2.

Bollobás B. *Random Graphs* (2nd ed.). Cambridge University Press. (2001)

Brito LM, Ribeiro-Dos-Santos A, Vidal AF, Araújo GS. Differential Expression and miRNA-Gene Interactions in Early and Late Mild Cognitive Impairment. *Biology (Basel)*. 2020 Aug 28;9(9):251. doi: 10.3390/biology9090251.

Bryan K, Terrile M, Bray IM, Domingo-Fernández R, Watters KM, Koster J, Versteeg R, Stallings RL. Discovery and visualization of miRNA-mRNA functional modules within integrated data using bicluster analysis. *Nucleic Acids Res*. 2014 Feb;42(3):e17.

Chen X, Zhao W, Yuan Y, Bai Y, Sun Y, Zhu W, Du Z. MicroRNAs tend to synergistically control expression of genes encoding extensively-expressed proteins in humans. *PeerJ*. 2017 Aug 14;5:e3682. doi: 10.7717/peerj.3682. eCollection 2017.

Chiesa AM, Fracolli LA, Veríssimo MDLÓR, Zaboli ELCP, Ávila LK, Oliveira, AAP. A construção de tecnologias de atenção em saúde com base na promoção da saúde. *Rev. Esc. Enferm*. 2009. USP 43, 1352–1357.

Chim SS, Shing TK, Hung EC, Leung TY, Lau TK, Chiu RW, Lo YM. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*. 2008; 54(3):482-90.

Chou CH, Shrestha S, Yang CD, Chang NW4, Lin YL, Liao KW, Huang WC1, Sun TH, Tu SJ, Lee WH, Chiew MY, Tai CS, Wei TY, Tsai TR, Huang HT, Wang CY, Wu HY, Ho SY, Chen PR, Chuang CH, Hsieh PJ, Wu YS, Chen WL, Li MJ, Wu YC, Huang XY, Ng FL, Buddhakosai W, Huang PC, Lan KC, Huang CY, Weng SL, Cheng YN, Liang C, Hsu WL, Huang HD, miRTarBase update 2018:

a resource for experimentally validated microRNA-target interactions, *Nucleic Acids Res.* 2018 Jan 4;46(D1):D296-D302

Costa EDBO, Pacheco C. Epigenética: regulação da expressão gênica em nível transcricional e suas implicações. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 2013; 34(2):125.

Cotton JL, Li Q, Ma L, Park JS, Wang J, Ou J, Zhu LJ, Ip YT, Johnson RL, Mao J. YAP/TAZ and Hedgehog Coordinate Growth and Patterning in Gastrointestinal Mesenchyme. *Dev Cell.* 2017 Oct 9;43(1):35-47.e4.

Davis JA, Saunders SJ, Mann M, Backofen R, Combinatorial ensemble miRNA target prediction of co-regulation networks with non-prediction data. *Nucleic Acids Res.* 2017 Sep 6;45(15):8745-8757

Denzler R, McGeary SE, Title AC, Agarwal V, Bartel DP, Stoffel M. Impact of MicroRNA Levels, Target-Site Complementarity, and Cooperativity on Competing Endogenous RNA-Regulated Gene Expression. *Mol Cell.* 2016 Nov 3;64(3):565-579

Dumortier O, Hinault C, Van Obberghen E. MicroRNAs and metabolism crosstalk in energy homeostasis. *Cell Metab.* 2013 Sep 3;18(3):312-324

Dweep, H et al. miRWalk2.0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions, *Nature Methods*, 12(8): 697-697 (2015).

East CE, Biro MA, Fredericks S, Lau R. Support during pregnancy for women at increased risk of low birthweight babies. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Apr 1;4(4):CD000198. doi:10.1002/14651858.CD000198.pub3.

Ebert MS, Sharp PA. MicroRNA sponges: Progress and possibilities. 2010. *RNA* 16:2043. <https://doi.org/10.1261/RNA.2414110>

Eckenrode J, Campa M, Luckey DW, Henderson CR Jr, Cole R, Kitzman H, Anson E, Sidora-Arcoleo K, Powers J, Olds D. Long-term effects of prenatal and infancy nurse home visitation on the life course of youths: 19-year follow-up of a randomized trial. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2010 Jan; 164(1): 9-15.

Estrada E. "The Structure of Complex Networks: Theory and Applications", Oxford University Press, 2011.

Euclides VLV, Gastaldi VD, Feltrin AS, Hoffman DJ, Gouveia G, Cogo H, Felipe-Silva A, Vieira RP, Miguel EC, Polanczyk GV, Chiesa A, Fracolli L, Matijasevich A, Ferraro A, Argeu A, Maschietto M, Brentani HP. DNA methylation mediates a randomized controlled trial home-visiting intervention during pregnancy and the Bayley infant's cognitive scores at 12 months of age. *J Dev Orig Health Dis.* 2022 Mar 8;1-10. doi: 10.1017/S2040174421000738. Online ahead of print.

Fan Y, Siklenka K, Arora SK, Ribeiro P, Kimmins S, Xia J. miRNet - dissecting miRNA-target interactions and functional associations through network-based visual analysis, *Nucleic Acids Res.* 2016 Jul 8;44(W1):W135-41.

Feltrin AS, Tahira AC, Simões SN, Brentani H, Martins DC, Jr. Assessment of complementarity of WGCNA and NERI results for identification of modules associated to schizophrenia spectrum disorders. *PLoS One*. 2019 Jan 15;14(1):e0210431.

Fatori D, Zuccolo PF, Shephard E, Brentani H, Matijasevich A, Ferraro AA, Fracolli LA, Chiesa AM, Leckman J, Miguel EC, Polanczyk GV. A randomized controlled trial testing the efficacy of a Nurse Home Visiting Program for Pregnant Adolescents. *Sci Rep*. 2021;11(1):14432. doi: 10.1038/s41598-021-93938-7

Fink G, Andrews KG, Brentani H, Grisi S, Scoleze Ferrer AP6, Brentani A. Overall and Sex-Specific Associations Between Fetal Adversity and Child Development at Age 1 Year: Evidence From Brazil. *Am J Epidemiol*. 2018 Nov 1;187(11):2324-2331.

Fracolli LA, Polanczyk GV, Chiesa AM, Miguel EC. Saúde mental e desenvolvimento infantil: o programa USP de visitação para jovens gestantes. In: *São Paulo carinhosa: o que grandes cidades e políticas intersectoriais podem fazer pela primeira infância*[S.l: s.n.], 2016.

Fracolli LA, Reticena KO, de Abreu FCP, Chiesa AM. A implementação de um programa de visitas domiciliárias com foco na parentalidade: um relato de experiência. *Rev. Esc. Enferm. USP* 52, e03361 (2018).

Fox SE1, Levitt P, Nelson CA 3rd. How the timing and quality of early experiences influence the development of brain architecture. *Child Dev*. 2010 Jan-Feb;81(1):28-40.

Gebert LFR, MacRae IJ. Regulation of microRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019 Jan;20(1):21-37. doi: 10.1038/s41580-018-0045-7.

Gluckman PD, Hanson MA, Cooper C, Thornburg KL. Effect of in utero and early-life conditions on adult health and disease. *N Engl J Med*. 2008; 359(1): 61-73.

Guo L, Zhao Y, Yang S, Zhang H, Chen F. Integrative analysis of miRNA-mRNA and miRNA-miRNA interactions. *BioMed Research International* 2014: Article 907420 doi: 10.1155/2014/907420.

Guo Z, Maki M, Ding R, Yang Y, Zhang B, Xiong L. Genome-wide survey of tissue-specific microRNA and transcription factor regulatory networks in 12 tissues. *Sci Rep*. 2014 Jun 3;4:5150. doi: 10.1038/srep05150.

Guo L, Lu Z. Global expression analysis of miRNA gene cluster and family based on isomiRs from deep sequencing data. *Comput Biol Chem*. 2010 Jun;34(3):165-71.

Ha M, Kim VN. Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014 Aug;15(8):509-24. doi: 10.1038/nrm3838. Epub 2014 Jul 16.

Harris A, Seckl J. Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Horm Behav*. 2011; 59(3): 279-89.

Hausser J, Syed AP, Bilen B, Zavolan M. Analysis of CDS-located miRNA target sites suggests that they can effectively inhibit translation. *Genome Res*. 2013 Apr;23(4):604-15.

Helwak A, Kudla G, Dudnakova T, Tollervey D. Mapping the Human miRNA Interactome by CLASH Reveals Frequent Noncanonical Binding. *Cell*. 2013 Apr 25; 153(3): 654–665.

doi: 10.1016/j.cell.2013.03.043

Hromadnikova I, Kotlabova K, Doucha J, Dlouha K, Krofta L. Absolute and relative quantification of placenta-specific micrnas in maternal circulation with placental insufficiency-related complications. *J Mol Diagn.* Mar-Apr 2012;14(2):160-7. doi: 10.1016/j.jmoldx.2011.11.003. Epub 2012 Jan 15.

Hsu TH, Yang CY, Yeh TH, Huang YC, Wang TW, Yu JY. The Hippo pathway acts downstream of the Hedgehog signaling to regulate follicle stem cell maintenance in the *Drosophila* ovary. *Sci Rep.* 2017 Jun 30;7(1):4480

Huang GT, Athanassiou C, Benos PV. mirConnX: condition-specific mRNA-microRNA network integrator. *Nucleic Acids Research*, 2011 July 1; 39(2): W416–W423

Huang Z, Shi J, Gao Y, Cui C, Zhang S, Li J, Zhou Y, Cui Q. HMDD v3.0: a database for experimentally supported human microRNA-disease associations. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D1013-D1017. doi: 10.1093/nar/gky1010.

Jablonka E and Lamb MJ. *The Changing Concept of Epigenetics.* New York Academy of Sciences, 2002; 981(Fall): 82–96.

Jin J and Menon R. Placental exosomes: A proxy to understand pregnancy complications. *Am J Reprod Immunol.* 2018;79:e12788.

Jia Y, Hoberock J, Garland M, Hart JC. On the visualization of social and other scale-free networks. *IEEE Trans Vis Comput Graph.* 2008;14(6):1285–92.

John B, Enright AJ, Aravin A, Tuschl T, Sander C, Marks DS. Human MicroRNA targets. *PLoS Biol.* 2004;2:e363. doi: 10.1371/journal.pbio.0020363. Epub 2004 Oct 5.

Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 2000 Jan 1;28(1):27-30

Kajantie E, Phillips DI, Andersson S, Barker DJ, Dunkel L, Forsén T, Osmond C, Tuominen J, Wood PJ, Eriksson J. Size at birth, gestational age and cortisol secretion in adult life: foetal programming of both hyper- and hypocortisolism? *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002 Nov;57(5):635-41.

Karagkouni D, Paraskevopoulou MD, Chatzopoulos S, Vlachos IS, Tastsoglou S, Kanellos I, Papadimitriou D, Kavakiotis I, Maniou S, Skoufos G, Vergoulis T, Dalamagas T, Hatzigeorgiou AG. DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions. *Nucleic Acids Res.* 2018 Jan 4;46(D1):D239-D245.

Kehl T, Backes C, Kern F, Fehlmann T, Ludwig N, Meese E, Lenhof HP, Keller A. About miRNAs, miRNA seeds, target genes and target pathways. *Oncotarget.* 2017 Nov 9;8(63):107167-107175

Kertesz M, Iovino N, Unnerstall U, Gaul U, Segal E. The role of site accessibility in microRNA target recognition. *Nat Genet.* 2007;39:1278–1284

Khalife N, Glover V, Hartikainen A-L, Taanila A, Ebeling H, Järvelin M-R, Rodriguez A. Placental Size Is Associated with Mental Health in Children and Adolescents. *PLoS One.* 2012;7(7):e40534.

Kieling C, Baker-Henningham, Belfer M, Conti G, Ertem I, Omigbodun O, Rohde LA, Srinath S, Ulkuer N, Rahman A. Child and adolescent mental health worldwide: evidence for action. 2011. *Lancet*;378(9801):1515-25

Kim VN e Nam JW. Genomics of microRNA. *Trends in Genetics* 2006, vol. 22, no. 3, pp. 165–173.

King, V. M. & Borchert, G. M. MicroRNA Expression: Protein Participants in MicroRNA Regulation. *Methods in molecular biology* 2017. 1617, 27–37. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7046-9_2.

Kuhn DE, Martin MM, Feldman DS, Terry Jr AV, Nuovo GJ, Elton TS. Experimental validation of miRNA targets. *Methods*. 2008 Jan;44(1):47-54. doi: 10.1016/j.ymeth.2007.09.005.

Krithikadatta J. Normal distribution. *J Conserv Dent*. 2014 Jan;17(1):96-7.

Kozomara A, Birgaoanu M, Griffiths-Jones S. miRBase: from microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Res*. 2019 Jan 8;47(D1):D155-D162.

Kuijjer ML, Fagny M, Marin A, Quackenbush J, Glass K. PUMA: PANDA Using MicroRNA Associations. *Bioinformatics*. 2020 Sep 15;36(18):4765-4773. doi: 10.1093/bioinformatics/btaa571.

Langfelder P and Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 2008 9:559

Lee I, Ajay SS, Yook JI, Kim HS, Hong SH, Kim NH, Dhanasekaran SM, Chinnaiyan AM, Athey BD. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3'-UTR interaction sites. *Mol Cell*. 2008 May 23;30(4):460-71.

León LE, Calligaris SD. Visualization and Analysis of MiRNA-Targets Interactions Networks. *Methods Mol Biol*. 2017;1509:209-220

Lim LP, Glasner ME, Yekta S, Burge CB, Bartel DP. Vertebrate microRNA genes. *Science*, 2003; vol. 299, no. 5612, p.1540.

Lima SAM, El Dib RP, Rodrigues MRK, Ferraz GAR, Molina AC, Neto CAP, de Lima MAF, Rudge MVC. Is the risk of low birth weight or preterm labor greater when maternal stress is experienced during pregnancy? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *PLoS One*. 2018 Jul 26;13(7):e0200594.

Liu CH, Fink G, Brentani H, Brentani A. An assessment of hair cortisol among postpartum Brazilian mothers and infants from a high-risk community in São Paulo: Intra-individual stability and association in mother-infant dyads. *Dev Psychobiol*. 2017; 59(7): 916-926.

Londin E, Loher P, Telonis AG, Quann K, Clark P, Jing Y, Hatzimichael E, Kirino Y, Honda S, Lally M, Ramratnam B, Comstock CE, Knudsen KE, Gomella L, Spaeth GL, Hark L, Katz LJ, Witkiewicz A, Rostami A, Jimenez SA, Hollingsworth MA, Yeh JJ, Shaw CA, McKenzie SE, Bray P, Nelson PT, Zupo S, Van Roosbroeck K, Keating MJ, Calin GA, Yeo C, Jimbo M, Cozzitorto J, Brody JR, Delgrosso K, Mattick JS, Fortina P, Rigoutsos I. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Mar 10;112(10):E1106-15.

Loscalzo J, Barabási AL, Silverman EK. *Network Medicine: Complex Systems in Human Disease and Therapeutics*. Londres: Harvard University Press, 2017.

Luo, S.-S. et al. Human Villous Trophoblasts Express and Secrete Placenta-Specific MicroRNAs into Maternal Circulation via Exosomes. *Biol Reprod.* 2009 Oct;81(4):717-29.

Malnou EC, Umlauf D, Mouysset M, Cavaillé J. Imprinted MicroRNA Gene Clusters in the Evolution, Development, and Functions of Mammalian Placenta. *Front Genet.* 2018; 9: 706. doi: 10.3389/fgene.2018.00706.

Martins J, Veríssimo MDLÓR, Oliveira, M. A. Avaliação dos instrumentos do projeto “Nossas Crianças: Janelas de Oportunidades”, segundo agentes comunitários de saúde. *Texto Contexto Enferm.* 2008. 17, 106–114.

Mathibe-Neke JM, Masitenyane SS. Psychosocial Antenatal Care: A Midwifery Context. Selected Topics in Midwifery Care. Edited by Ana Polona Mivšek. IntechOpen. November 5th 2018. doi: 10.5772/intechopen.80394

Mi H, Huang X, Muruganujan A, Tang H, Mills C, Kang D, Thomas PD. PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. *Nucleic Acids Res.* Jan 2017;45(D1):D183-D189.

Mitchell MD, Peiris HN, Kobayashi M, Koh YQ, Duncombe G, Illanes SE, Rice GE, Salomon C. Placental exosomes in normal and complicated pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213(4):S173-81.

Morales-Prieto DM1, Chaiwangyen W, Ospina-Prieto S, Schneider U, Herrmann J, Gruhn B, Markert UR. Placenta. MicroRNA expression profiles of trophoblastic cells. 2012 Sep;33(9):725-34.

Moszyńska A, Gebert M, Collawn JF, Bartoszewski R. SNPs in microRNA target sites and their potential role in human disease. *Open Biol.* 2017 Apr; 7(4): 170019. doi: 10.1098/rsob.170019

Na YJ, Kim JH. Understanding cooperativity of microRNAs via microRNA association networks. *BMC Genomics* 2013. 14(Suppl 5):S17 doi: 10.1186/1471-2164-14-S5-S17.

Nakanishi K, Anatomy of RISC: how do small RNAs and chaperones activate Argonaute proteins? *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2016 Sep;7(5):637-60.

National Cancer Institute (NIH) Dictionaries Biomarker. Governo dos EUA. NIH. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/biomarker>>. Acesso em: 05 de Janeiro de 2022).

Olds, D. L. The nurse-family partnership: An evidence-based preventive intervention. *Infant Ment Health J.* 2006 Jan;27(1):5-25. doi: 10.1002/imhj.20077.

Oliveira PP. *Incorporação de evidências biológicas para a identificação de SNPs interferindo em sítios alvos de miRNAs.* Novembro de 2018. 96f. Tese (Doutorado em Bioinformática) - Interunidades em Bioinformática, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Ørom UA, Nielsen FC, Lund AH. MicroRNA-10a binds the 5'UTR of ribosomal protein mRNAs and enhances their translation. *Mol Cell.* 2008 May 23;30(4):460-71.

O'Donnell KA, Gaudreau H, Colalillo S, Steiner M, Atkinson L, Moss E, Goldberg S, Karama S, Matthews SG, Lydon JE, Silveira PP, Wazana AD, Levitan RD, Sokolowski MB, Kennedy JL, Fleming A, Meaney MJ, MAVAN Research Team. The maternal adversity, vulnerability and

- neurodevelopment project: theory and methodology. *Can J Psychiatry*. 2014 Sep;59(9):497-508. doi: 10.1177/070674371405900906.
- O'Neil D, Glowatz H, Schlumpberger M. Ribosomal RNA depletion for efficient use of RNA-seq capacity. *Curr Protoc Mol Biol*. 2013 Jul;Chapter 4:Unit 4.19. doi: 10.1002/0471142727.mb0419s103.
- Padi M, Quackenbush J. Detecting phenotype-driven transitions in regulatory network structure. *NPJ Syst Biol Appl*. 2018 Apr 19;4:16
- Palasca O, Santos A, Stolte C, Gorodkin J, Jensen LJ. TISSUES 2.0: an integrative web resource on mammalian tissue expression. *Database (Oxford)*. 2018; 2018: bay003.doi: 10.1093/database/bay003
- Panwar B, Omenn GS, Guan Y. miRmine: a database of human miRNA expression profiles. *Bioinformatics*. 2017 May 15; 33(10): 1554–1560. doi: 10.1093/bioinformatics/btx019
- Paugh SW, Coss DR, Bao J, Laudermilk LT, Grace CR, Ferreira AM, Waddell MB, Ridout G, Naeve D, Leuze M, LoCascio PF, Panetta JC, Wilkinson MR, Pui CH, Naeve CW, Uberbacher EC, Bonten EJ, Evans WE. MicroRNAs Form Triplexes with Double Stranded DNA at Sequence-Specific Binding Sites; a Eukaryotic Mechanism via which microRNAs Could Directly Alter Gene Expression. *PLoS Comput Biol*. 2016 Feb 4;12(2):e1004744.
- Pearson RM, Bornstein MH, Cordero M, Scerif G, Mahedy L, Evans J, et al. Maternal perinatal mental health and offspring academic achievement at age 16: The mediating role of childhood executive function. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 57 (4) (2016), pp. 491-501
- Pertea M. *The Human Transcriptome: An Unfinished Story* Genes (Basel). 2012 Sep;3(3):344-60. doi: 10.3390/genes3030344.
- Peschansky, VJ, Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. *Epigenetics*. 2014 Jan;9(1):3-12.
- Pinheiro DGM, Coelho TPB, Silva CFA, Silva LA, Chiesa AM, Fracolli LA. Validação de conteúdo do programa de visita domiciliar para a diáde mãe-criança. *Cogitare Enfermagem* 23, e54055 (2018).
- Piovezani AR. *SIMTar: Uma ferramenta para predição de SNPs interferindo em sítios alvos de microRNAs*. Novembro de 2013. Dissertação (Mestrado em Bioinformática) – Interunidades em Bioinformática, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Place RF, Li LC, Pookot D, Noonan EJ, Dahiya R. MicroRNA-373 induces expression of genes with complementary promoter sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Feb 5;105(5):1608-1613.
- Platig J, Castaldi PJ, DeMeo D, Quackenbush J. (2016). Bipartite Community Structure of eQTLs. *PLoS Comput. Biol.* 12:e1005033. doi: 10.1371/journal.pcbi.1005033.
- Pyhälä R, Hovi P, Lahti M, Sarmallahti S, Lahti J, Heinonen K, Pesonen A, Strang-Karlsson S, Eriksson JG, Andersson S, Järvenpää A, Kajantie E, Räikkönen K. Very Low Birth Weight, Infant Growth, and Autism-Spectrum Traits in Adulthood. November 2014; *Pediatrics* 134(6).
- Rahiminejad S, Maurya MR, Subramaniam S. Topological and functional comparison of community detection algorithms in biological networks. *BMC Bioinformatics*. 2019 Apr 27;20(1):212

Reijneveld SA, de Kleine MJ, van Baar AL, Kollée LA, Verhaak CM, Verhulst FC, Verloove-Vanhorick SP. Behavioural and emotional problems in very preterm and very low birthweight infants at age 5 years. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006 Nov;91(6):F423-8.

Riffo-Campos ÁL, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose? *Int J Mol Sci.* 2016 Dec 9;17(12): E1987.

Riolo G, Cantara S, Marzocchi C, Ricci C. miRNA Targets: From Prediction Tools to Experimental Validation. *Methods Protoc.* 2020 Dec 24;4(1):1. doi: 10.3390/mps4010001.

Robertson, SA, Zhang B, Chan H, Sharkey DJ, Barry SC, Fullston T, Schjenken JE. MicroRNA regulation of immune events at conception. *Molecular Reproduction and Development, Mol Reprod Dev.* 2017 Sep;84(9):914-925. doi: 10.1002/mrd.22823.

Sadler LS, Slade A, Close N, Webb DL, Simpson T, Fennie K, Mayes LC. Minding the Baby: Enhancing reflectiveness to improve early health and relationship outcomes in an interdisciplinary home visiting program. *Infant Ment Health J.* 2013 Sep 1;34(5):391-405. doi:10.1002/imhj.21406.

Salomon C, Torres MJ, Kobayashi M, Scholz-Romero K, Sobrevia L, Dobierzewska A, Illanes SE, Mitchell MD, Rice GE. A gestational profile of placental exosomes in maternal plasma and their effects on endothelial cell migration. *PLoS One.* 2014;9(6):e98667.

Sandman CA, Davis EP, Buss C, Glynn LM. Prenatal Programming of Human Neurological Function. *Int J Pept.* 2011;2011:837596.

Santos Sde S, Galatro TF, Watanabe RA, Oba-Shinjo SM, Nagahashi Marie SK2, Fujita A. CoGA: An R Package to Identify Differentially Co-Expressed Gene Sets by Analyzing the Graph Spectra. *PLoS One.* 2015 Aug 27;10(8):e0135831

Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008;3(6):1101-8. doi: 10.1038/nprot.2008.73.

Schmitz U, Lai X, Winter F, Wolkenhauer O, Vera J, Gupta SK. Cooperative gene regulation by microrna pairs and their identification using a computational workflow. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(12):7539–7552.

Seco S, Matias A. Origem fetal das doenças do adulto: revisitando a teoria de Barker. *Acta Obstet Ginecol Port.* 2009; 3(3): 158-168.

Seitz H. Issues in current microRNA target identification methods. *RNA Biol.* 2017 Jul 3;14(7):831-834.

Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003 Nov;13(11):2498-504.

Shonkoff et al (2012) An Integrated Scientific Framework for Child Survival and Early Childhood Development. *Pediatrics*; 129 (2):1-13.

Shonkoff JP (2010) Building a new biodevelopmental framework to guide the future of early childhood policy. *Child Dev*; 81(1):357-67.

Shukla V, Varghese VK, Kabekkodu SP, Mallya S, Satyamoorthy K. A compilation of Web-based research tools for miRNA analysis. *Brief Funct Genomics*. 2017 Sep 1; 16(5):249-273.

Simões SN. Uma abordagem de integração de dados de redes PPI e expressão gênica para priorizar genes relacionados a doenças complexas. Tese (Doutorado) — Instituto de Matemática e Estatística - Universidade de São Paulo, Rua do Matão, 1010, 2015.

Simões SN, Martins-Jr DC, Pereira CAB, Hashimoto RF, Brentani H. NERI: network-medicine based integrative approach for disease gene prioritization by relative importance. *BMC Bioinformatics*. 2015;16 Suppl 19:S9.

Siqueira L, Chiesa AM, Miguel E, Silva L, Vadakattu S, Alarcao F, Fracolli L. Nurse home visit program to promote parenting in Brazil: Premises and planning. *Rev. Esc. Enferm. USP* (2020). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-34304/v1>

Song Y, Kilburn D, Song JH, Cheng Y, Saeui CT, Cheung DG, Croce CM, Yarema KJ, Meltzer SJ, Liu KJ, Wang T. Determination of absolute expression profiles using multiplexed miRNA analysis. *PLoS One*. 2017 Jul 13;12(7):e0180988. doi: 10.1371/journal.pone.0180988. eCollection 2017.

Sukhato K, Wongrathanandha C, Horsuwansak P. et al. Effectiveness of psychosocial intervention for teenage pregnancy on low birth weight and preterm birth outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMC Health Serv Res* 14, P120 (2014). <https://doi.org/10.1186/1472-6963-14-S2-P120>

Sun E, Shi Y. MicroRNAs: Small molecules with big roles in neurodevelopment and diseases. *Exp Neurol*. 2015; 268:46-53.

Takahashi DY, Sato JR, Ferreira CE, Fujita A. Discriminating different classes of biological networks by analyzing the graphs spectra distribution. *PLoS One*. 2012;7(12):e49949

Takahashi H, Ohkuchi A, Usui R, Takizawa T, Matsubara S, Suzuki M. Importance of Chromosome 19 miRNA Cluster in Pregnancy. *Med J Obstet Gynecol*. 2014; 2(2):1032.

Tsochandaridis M, Nasca L, Toga C, Levy-Mozziconacci A. Circulating MicroRNAs as Clinical Biomarkers in the Predictions of Pregnancy Complications. *Biomed Res Int*. 2015;2015:294954.

Vallone D, Lahiri K, Dickmeis T, Foulkes NS. Start the clock! Circadian rhythms and development. *Dev Dyn*. 2007 Jan;236(1):142-55

Vlachos IS, Paraskevopoulou MD, Karagkouni D, Georgakilas G, Vergoulis T, Kanellos I, Anastasopoulos IL, Maniou S, Karathanou K, Kalfakakou D, Fevgas A, Dalamagas T, Hatzigeorgiou AG. DIANA-TarBase v7.0: indexing more than half a million experimentally supported miRNA:mRNA interactions. *Nucleic Acids Res*. 2015 Jan;43(Database issue):D153-9.

Vohr B. Speech and language outcomes of very preterm infants. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2014;19:78-83.

Wadhwa PD, Sandman CA, Porto M, Dunkel-Schetter C, Garite TJ. The association between prenatal stress and infant birth weight and gestational age at birth: a prospective investigation. *Am J Obstet Gynecol*. 1993 Oct;169(4):858-65.

- Wahid F, Shehzad A, Khan T, Kim YY. MicroRNAs: synthesis, mechanism, function, and recent clinical trials. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Nov;1803(11):1231-43
- Walsh CJ, Hu P, Batt J, Dos Santos CC. Discovering MicroRNA-Regulatory Modules in Multi-Dimensional Cancer Genomic Data: A Survey of Computational Methods. *Cancer Inform*. 2016 Oct 3;15(2):25-42
- Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics. *J Cell Physiol*. 2016 Jan;231(1):25-30. doi: 10.1002/jcp.25056.
- Weber JA1, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, Galas DJ, Wang K. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*. 2010 Nov;56(11):1733-41.
- Weinhold B. Epigenetics: The Science of Change. *Environ Health Perspect. Environews Focus*. 2006 Mar; 114(3): A160–A167. doi: 10.1289/ehp.114-a160.
- Woodward LJ, Moor S, Hood KM, et al. Very preterm children show impairments across multiple neurodevelopmental domains by age 4 years. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2009 Sep;94(5):F339-44.
- Xiao F, Zuo Z, Cai G, Kang S, Gao X, Li T. miRecords: an integrated resource for microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res*. 2009 Jan;37(Database issue):D105-10.
- Xu J, Li CX, Li YS, Lv JY, Ma Y, Shao TT, Xu LD, Wang YY, Du L, Zhang YP, Jiang W, Li CQ, Xiao Y, Li X. MiRNA-miRNA synergistic network: construction via coregulating functional modules and disease miRNA topological features. *Nucleic Acids Research*. 2011; 39(3):825–836. doi: 10.1093/nar/gkq832.
- Xu J, Li Y, Li X, Li C, Shao T, Bai J, Chen H, Li X. Dissection of the potential characteristic of mirna–mirna functional synergistic regulations. *Mol BioSyst*. 2013;9(2):217–24.
- Xue Chen, Wei Zhao, Ye Yuan, Yan Bai, Yong Sun, Wenliang Zhu, Zhimin Du. MicroRNAs tend to synergistically control expression of genes encoding extensively-expressed proteins in humans. *PeerJ*. 2017; 5: e3682. doi: 10.7717/peerj.3682
- Yang KC, Hsu CL, Lin CC, Juan HF, Huang HC. Mirin: identifying microRNA regulatory modules in protein-protein interaction networks. *Bioinformatics*. 2014 Sep 1;30(17):2527-2528
- Yu FX, Guan KL. The Hippo pathway: regulators and regulations. *Genes Dev*. 2013 Feb 15;27(4):355-71.
- Yu G, Wang L, Han Y and He Q*. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*. 2012, 16(5):284-287.
- Yuan JS, Reed A, Chen F, Stewart CN Jr. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics*. 2006 Feb 22;7:85. doi: 10.1186/1471-2105-7-85.

Zhang Y, Li Y, Wang Q, Zhang X, Wang D, Tang HC, Meng X, Ding X. Identification of an lncRNA-miRNA-mRNA interaction mechanism in breast cancer based on bioinformatic analysis. *Phys Rev E*. 2018 Jul;98(1-1):012319

Zhou X, Yang PC. 2012. MicroRNA: a small molecule with a big biological impact. *Microna* 1(1):1
doi: 10.2174/2211536611201010001.

10. Anexos e Apêndices

10.1. Anexos

Anexo 1: Aprovação no comitê de ética



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Integração de dados de exposição ambiental pré e pós natal e sua associação com medidas biológicas para busca de marcadores biológicos de transtornos do neurodesenvolvimento.

Pesquisador: Helena Paula Brentani

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 1

CAAE: 34786420.0.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.171.704

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto retrospectivo onde os pesquisadores vão avaliar componentes de exposição ambiental pré-natal e sua associação com medidas biológicas maternas de exposição ao estresse. Ainda integrar dados placentários de redes gênicas de resposta ao estresse e dimorfismo sexual e componentes de exposição ambiental pré e pós natal e sua associação com medidas biológicas de exposição ao estresse da criança. Para o desenvolvimento do projeto serão usadas amostras biológicas que fazem parte do banco de DNA do Laboratório de Patologia Clínica do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O estudo é de grande importância na especialidade médica, os pesquisadores são aptos para o desenvolvimento da pesquisa e seus resultados poderão identificar e caracterizar marcadores biológicos que podem auxiliar em transtornos do neurodesenvolvimento.

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores vão realizar uma abordagem multidisciplinar baseada em conceitos de Biologia Sistêmica e Aprendizado de Máquina para fazer a integração de dados complexos e contribuir com modelos biológicos de susceptibilidade para transtornos do neurodesenvolvimento.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 4.171.704

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O protocolo proposto não apresenta riscos para o sujeito da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa importante em transtornos do neurodesenvolvimento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estudo isento de TCLE.

Recomendações:

Recomendamos sua aprovação

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1510480.pdf	08/07/2020 20:15:28		Aceito
Outros	APROVACAO_CHECKLIST.pdf	08/07/2020 20:14:43	Helena Paula Brentani	Aceito
Outros	Uso_de_dados.pdf	08/07/2020 20:11:33	Helena Paula Brentani	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Isencao_de_TCLE_HelenaBrentani.pdf	05/07/2020 16:01:25	Helena Paula Brentani	Aceito
Orçamento	Detalhamento_de_custeio.pdf	05/07/2020 16:01:02	Helena Paula Brentani	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	05/07/2020 16:00:17	Helena Paula Brentani	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 4.171.704

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_pesquisa.pdf	05/07/2020 15:59:52	Helena Paula Brentani	Aceito
Folha de Rosto	FR_HBrentani_12374.pdf	05/07/2020 15:52:08	Helena Paula Brentani	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 24 de Julho de 2020

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

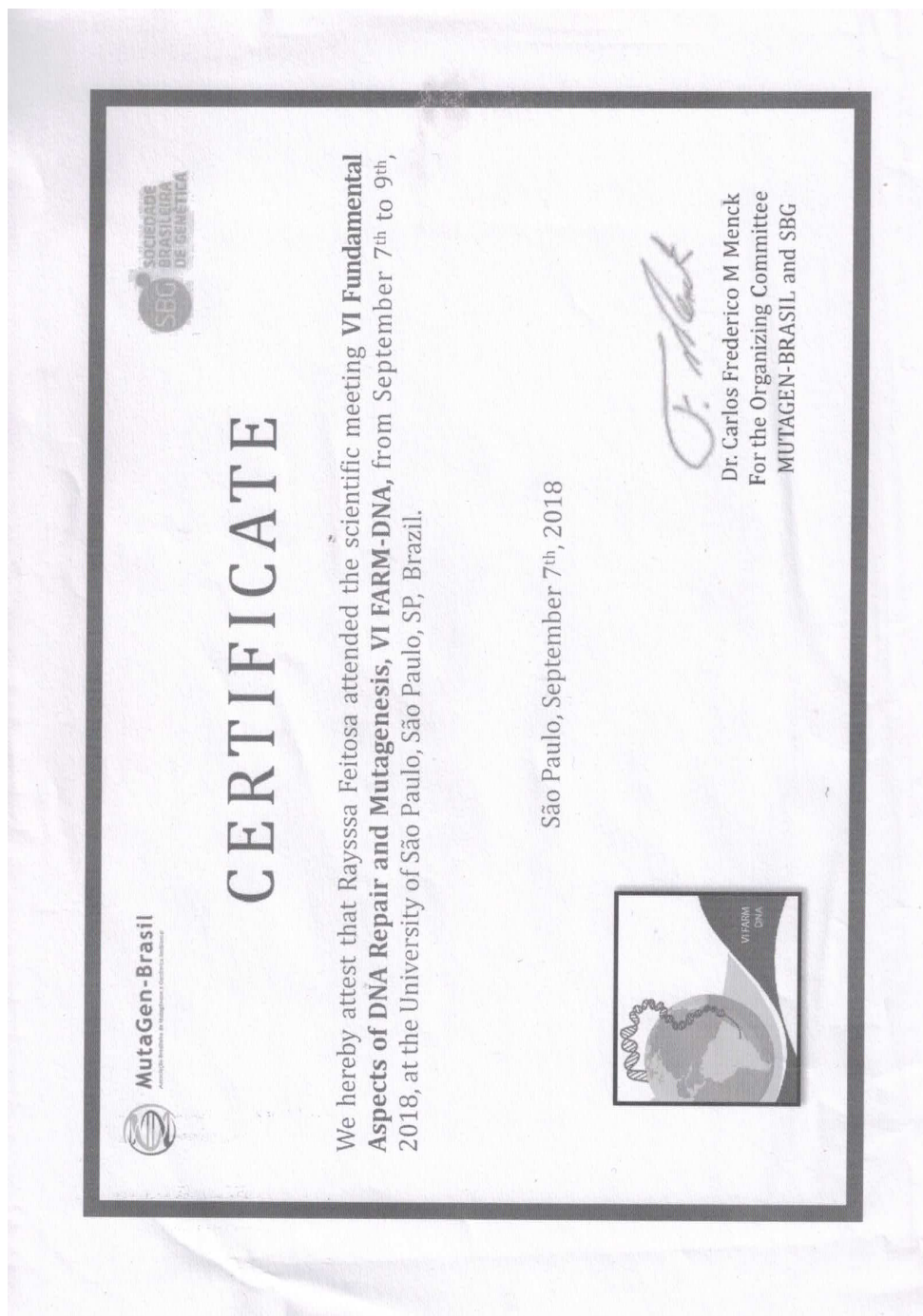
Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo 3: Certificado de participação no VI FARM-DNA



Anexo 4: Certificado de participação no VI Workshop sobre Interações Materno-Fetais. Placenta: um órgão chave na saúde e na doença gestacional



**República Federativa do Brasil
Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas**

O Diretor do Instituto de Ciências Biomédicas, nos termos do artigo 74, parágrafo único, inciso 5, alínea "b", do Estatuto da Universidade de São Paulo, certifica que

Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa

de nacionalidade brasileira,
portadora da cédula de identidade RG nº 8666885 PE,
nascida a 8 de abril de 1994 e natural do Estado de Pernambuco,
concluiu o

**Curso de Extensão Universitária na modalidade de Difusão:
VI Workshop sobre Interações Materno-Fetais
Placenta: um órgão chave na saúde e na doença gestacional**

E, para que possa gozar de todos os direitos e prerrogativas legais, outorga-lhe o presente Certificado.

São Paulo, 25 de outubro de 2019



**Presidente da Comissão de Cultura e
Extensão Universitária**
Alda Maria Backx Noronha Madeira



Diretor
Luis Carlos de Souza Ferreira

Código de controle: 3VLJ-LZ48-YXPH-KFEC

Período do Curso:	02/09/2019 a 05/09/2019
Carga Horária:	24:00 horas
Frequência:	75.00%
Área de Conhecimento:	Saúde e Biológicas
Avaliação Final:	Aprovado

Anexos 5: Certificados de participação/voluntariado no X-meeting 2019.

Verifique o código de autenticidade 104982.8052294.6.8.08495906554819 em <https://www.even3.com.br/documentos>



CERTIFICATE

This certifies that Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa, has participated in the X-meeting 2019 - 15th International Conference of the AB3C held in Campos do Jordão, São Paulo, Brazil, between 10-30-2019 - 11-01-2019.

Campos do Jordão, November 01st, 2019.


Ney Lemke
AB3C President



Verifique o código de autenticidade 1865971.8052294.6.8.865971805229468 em <https://www.even3.com.br/documentos>



Volunteer Certificate

This certifies that **Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa** has been selected to be a Volunteer and supported the X-meeting 2019 - 15th International Conference of the AB3C, held in Campos do Jordão between October 30th and november 01st 2019.

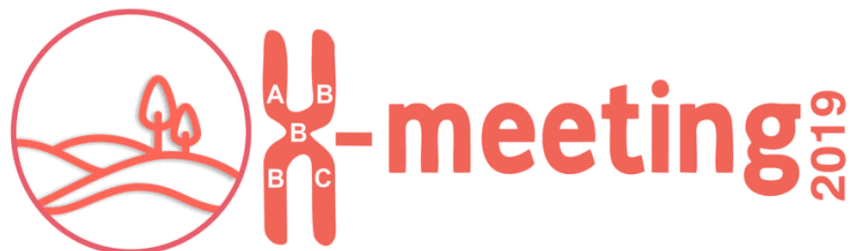
Campos do Jordão, November 01st, 2019


Ney Lemke
AB3C President



Anexo 6: Apresentação de pôster na X-meeting.

Verifique o código de autenticidade 104986.8052294.368484.8.0849190655487198989 em <https://www.even3.com.br//documentos>



Certificate of Poster presentation

This certifies that the work entitled **Network Creation and Comparison From MicroRNAs Extracted From Peripheral Blood Of Primigravidae Submitted Or Not To Psychosocial Intervention**, authored by *Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa, Helena Brentani, Ariane Machado Lima and Gisele Rodrigues Gouveia* was presented by Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa during the Poster session of the X-Meeting 2019 - 15th International Conference of the Brazilian Association of Bioinformatics and Computational Biology (AB3C), held in Campos do Jordão - Brazil between October 30th and November 01st, 2019.

Campos do Jordão, 01st November 2019.


Ney Lemke
AB3C President


Alexandre Paschoal
Poster Chair



Anexo 7: Organização do curso de verão de bioinformática USP 2020 e 2021



Certificamos que Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa participou da Comissão Organizadora do XII Curso de Verão em Bioinformática, composta por discentes do Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da USP - evento realizado na Universidade de São Paulo no período de 03 a 08 de fevereiro de 2020.

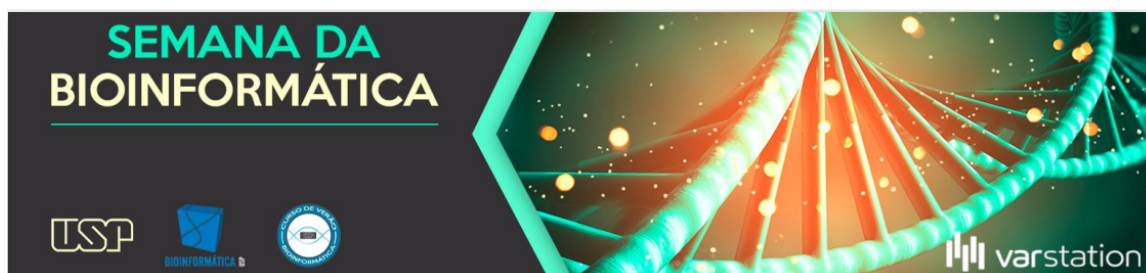
São Paulo, 8 de fevereiro de 2020

Prof. Dr. João Carlos Setubal
Coordenador do PPG em Bioinformática – USP

Apoio:



Patrocínio:



Certificamos que

Rayssa Maria de Melo Wanderley Feitosa participou da Comissão Organizadora da Semana de Bioinformática, composta por discentes do Programa Interunidades de Pós-Graduação em Bioinformática da USP, no período de 1 a 7 de fevereiro de 2021 às 19:00 h, com carga horária total de 8 h, transmitido ao vivo pelo canal do YouTube^{BR} - "Curso de Verão em Bioinformática - USP" -

<https://www.youtube.com/channel/UCe0Fk5P994NjJpLZwkaOnGA>

São Paulo, 8 de fevereiro de 2021

Prof. Dr. André Fujita
Coordenador do PPG em Bioinformática – USP

MSc. Fernando Pacheco Nobre Rossi
Presidente da Comissão de Organização do
Curso de Verão em Bioinformática - USP

Anexo 8: Participação no I seminário de neurologia do Autismo ONLINE

Acesse <https://dcity.com.br/validar-certificado> para verificar se este certificado é válido. Código de validação: 0099H9R



10.2. Apêndices

Apêndice 1: Tabela com miRNAs expressos durante a gestação normal, incluindo período gestacional e plataforma de expressão

miRNA	Sample Type	From exosome/ exosome PLAP+	Gestational.Period	DOI	Experiments
hsa-miR-517a-3p	ONLY PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-518b	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-21-5p	PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-23a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-34b-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-34b-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-483-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-512-3p	PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-517b-3p	ONLY PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-520a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-93-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-526a-5p	SERUM	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1371 / journal.pone.0003148	RT-PCR
hsa-miR-527	SERUM	No	1ST AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1371 / journal.pone.0003148	RT-PCR
hsa-miR-143-3p	PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-191-5p	PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-214-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-25-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-324-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-331-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-342-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-34a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-34b-3p	PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-34b-5p	PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-449a	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-497-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-503-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-92b-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-99a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-517a-3p	PLASMA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1111/jog.13610	RT-PCR
hsa-miR-518b	PLASMA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1111/jog.13610	RT-PCR
hsa-miR-518b	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-515-3p	PLASMA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1111/jog.13610	RT-PCR

hsa-miR-516b-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-517c-3p	PLASMA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1111/jog.13610	RT-PCR
hsa-miR-520a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-520h	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-526a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-517-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-525-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST, 2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.jri.2011.02.006	RT-PCR
hsa-miR-518b	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518e-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-371a-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-373-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-127-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-134-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-134-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-17-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-18a-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-19a-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-200a-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1016/j.placenta.2012.05.009	RT-PCR
hsa-miR-20b-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-31-5p	ONLY PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-31-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519a-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-409-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-409-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-412-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-412-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-498-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-498-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518c-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518d-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518f-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519b-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519c-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520c-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520c-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-523-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520f-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520f-5p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-522-3p	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-665	PLACENTA	No	1ST>3RD	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR

hsa-miR-203a-5p	PLACENTA	No	2ND AND 3RD TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719117725817	RT-PCR
hsa-miR-141-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-141-3p	PLASMA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1166/jnn.2012.6196	RNAseq; RT-PCR
hsa-miR-424-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-517a-3p	PLASMA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.114.121616	RT-PCR
hsa-miR-517a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-517a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518b	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518e-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518e-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518e-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-524-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-524-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-524-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-135b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-135b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-149-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-299-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-299-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-154-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-154-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-34c-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-139-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-154-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-154-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-373-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-137-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-137-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-184	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-372-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-372-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-372-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-371a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-371a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-337-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-337-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-miR-373-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-373-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1373/clinchem.2007.097972	RT-PCR
hsa-let-7a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-let-7a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR

hsa-let-7e-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-miR-100-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-125b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-127-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-127-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-127-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-1323	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-1323	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-1323	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-134-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-140-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-196b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-21-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-21-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-22-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-23a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-27a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-29a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-29a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-30e-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-323a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-323a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RT-PCR;EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-337-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-369-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-369-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-370-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-370-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-371a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-376a-2-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-376b-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-519a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-376c-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-379-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-379-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-380-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-381-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-381-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-409-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq

hsa-miR-409-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-410-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-411-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-411-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-412-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-432-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-433-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-432-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-433-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-450a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-484	PLASMA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-485-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-487a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-487a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-493-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-493-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-494-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-495-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-498-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-498-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-498-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-512-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-512-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-515-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-515-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-515-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-515-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-515-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-518c-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-518c-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-516a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-516a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-516a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-516b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-516b-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-516b-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-517b-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-517b-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-517c-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR

hsa-miR-517c-3p	ONLY PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-517c-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518d-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518f-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-519a-3p	ONLY PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-519b-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519c-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-519c-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-519d-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-519d-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520a-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520a-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520c-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520c-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520e-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-523-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-523-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-539-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-539-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520f-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0176493	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520f-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520h	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-522-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-524-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-526b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.18632/oncotarget.25264	microarray; RT-PCR
hsa-miR-526b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-526b-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-526b-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-758-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-889-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-518a-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-655-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-93-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-525-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-517-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-517-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-525-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-525-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray

hsa-miR-521	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518e-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-520g-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-519e-3p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-518f-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-519e-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-519e-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-miR-1283	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gas013	RT-PCR; microarray
hsa-let-7f-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-let-7c-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-let-7b-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-let-7d-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.02.008	RT-PCR
hsa-miR-16-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-182-5p	PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1038 / pr.2013.102	RT-PCR
hsa-miR-1185-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-299-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-323b-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-377-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-382-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-656-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-1185-1-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-136-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-377-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-382-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-431-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-487b-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-654-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-654-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-431-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-516a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-136-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520d-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-512-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-518a-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-520d-3p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.10.004	RNAseq
hsa-miR-141-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation
hsa-miR-424-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-let-7e-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR

hsa-miR-143-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-181c-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-181d-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-21-5p	PLASMA AND PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-22-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-29a-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-34b-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-34b-5p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-376b-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-376c-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520a-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-551b-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-551b-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1095/biolreprod.108.075481	RNAseq; RT-PCR; EIF2C2 Immunoprecipitation; Hibridization In situ
hsa-miR-758-3p	PLACENTA	No	3RD>1ST	DOI: 10.1152/ajpendo.00660.2012	microarray; RT-PCR
hsa-miR-141-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518b	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-154-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-204-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-218-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-323a-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-411-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-411-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-433-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-433-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-487a-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-498-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-515-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-515-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-518c-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-517c-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519a-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519d-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-519d-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-520a-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-526b-5p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-526b-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR
hsa-miR-525-3p	PLASMA	No	DECREASE AFTER DELIVER	DOI: 10.1373/clinchem.2010.147660	microarray; RT-PCR

hsa-miR-141-3p	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR
hsa-miR-424-5p	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR
hsa-miR-517a-3p	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR
hsa-miR-518b	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR
hsa-miR-518e-3p	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR
hsa-miR-524-3p	PLASMA	No	NOT MENTIONETED	DOI: 10.1016/j.placenta.2010.07.001	RT-PCR

Apêndice 2: Tabela com miRNAs diferencialmente expressos em gestações complicadas, incluindo período gestacional e plataforma de expressão

Expression	miRNA	Sample Type	Condition	Gestational.Period	DOI	Experiments
UP	hsa-miR-20b-5p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-942-5p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-324-3p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-223-5p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-127-3p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-661	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-212-3p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
UP	hsa-miR-197-3p	SORO	ABNORMAL FETAL GROWTH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1080/15592294.2017.1358345	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-16	PLACENTA	ABNORMAL FETAL GROWTH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0021210	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	ABNORMAL FETAL GROWTH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0021210	RT-PCR
UP	hsa-miR-122-5p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-126-3p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-216b	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-221-3p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-3119	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-3942-5p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-4704-3p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-4743-5p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-514-5p	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR

UP	hsa-miR-602	SORO	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/acer.13026	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-222-5p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-299-3p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-491-3p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-885-3p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-518f-3p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-760	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-671-5p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-449-a	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-204-5p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-519a-3p	PLASMA	ASD (ALCOHOL SPECTRUM DISORDER)	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0165081	RT-PCR; Elisa
UP	hsa-miR-19b-3p	SORO	CONGENITAL HEART DEFECTS (CHD)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.010	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-22-3p	SORO	CONGENITAL HEART DEFECTS (CHD)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.010	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-29c-3p	SORO	CONGENITAL HEART DEFECTS (CHD)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.010	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-375	SORO	CONGENITAL HEART DEFECTS (CHD)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.010	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-125a-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-224-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-584-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-186-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-22-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-99b-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-433-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-197-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR423-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-208a-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-335-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-451a	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-145-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-369-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR

DOWN	hsa-miR-483-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-203a-3b	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-574-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-144-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-6795-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-550a-3-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-411-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-140-3p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/CS20180487	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-223-3p	PLASMA	DMG	1st TRIMESTER	DOI:10.1530/EJE-19-0206	RT-PCR
UP	hsa-miR-23a-3p	PLASMA	DMG	1st TRIMESTER	DOI:10.1530/EJE-19-0206	RT-PCR
UP	hsa-miR-330-3p	SORO	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-020-57838-6	RT-PCR
UP	hsa-miR-518d-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2014.2058	RT-PCR
UP	hsa-miR-98-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/srep32268	RT-PCR
UP	hsa-miR-657	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/jcp.27468	RT-PCR
UP	hsa-miR-138-5p	PLACENTA	DMG	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000495319	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-520h	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-1323	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-136-5p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-342-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-29a-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-29b-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-122-5p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-132-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-182-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-3p	SORO E PLACENTA	DMG	1st TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2018-02693	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-132-3p	SORO E PLACENTA	DMG	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s13000-019-0899-9	RT-PCR
UP	hsa-miR125a-3p	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
UP	hsa-miR-423-5p	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
UP	hsa-miR-575	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
UP	hsa-miR-3663-5p	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
UP	hsa-let-7c	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
UP	hsa-miR-122-5p	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]
DOWN	hsa-miR-135a	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8530	RT-PCR; Microarray [†]

DOWN	hsa-miR-17-5p	PLACENTA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ejogrb.2013.01.025	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-19b-3p	PLACENTA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ejogrb.2013.01.025	RT-PCR
UP	hsa-miR-184	PLACENTA E PLASMA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41419-019-1443-2	RT-PCR
UP	hsa-miR-940	PLACENTA	EARLY PREGNANCY LOSS (EPL)	1st TRIMESTER	DOI: 10.26355/eurrev_201904_17539	RT-PCR
UP	hsa-miR-218-5p	SORO	ECTOPIC PREGNANCY (EP)	1st TRIMESTER	DOI.org/10.1159/000475946	RT-PCR
UP	hsa-miR-323a-3p	SORO	ECTOPIC PREGNANCY (EP)	1st TRIMESTER	DOI.org/10.1159/000475946	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-223-3p	SORO	ECTOPIC PREGNANCY (EP)	1st TRIMESTER	DOI.org/10.1159/000475946	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-873-5p	SORO	ECTOPIC PREGNANCY (EP)	1st TRIMESTER	DOI.org/10.1159/000475946	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-141-3p	SORO	ECTOPIC PREGNANCY (EP)	1st TRIMESTER	DOI.org/10.1159/000475946	RT-PCR
UP	hsa-miR-323-3p	PLASMA	ECTOPIC PREGNANCY AND MISCARRIAGE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.041	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-517a-3p	PLASMA	ECTOPIC PREGNANCY AND MISCARRIAGE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.041	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-519d	PLASMA	ECTOPIC PREGNANCY AND MISCARRIAGE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.041	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-525-3p	PLASMA	ECTOPIC PREGNANCY AND MISCARRIAGE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.01.041	RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0058737	RT-PCR
UP	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.04.009	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1323	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-516b-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-515-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-519d	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-520h	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-526b-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/pd.4045	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2019.07.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-3679-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-193b-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-335-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-379-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-519e-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3065-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-105-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI:10.1016/j.placenta.2019.05.001	RNA-seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-518b	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1055/s-0033-1361832	RT-PCR
UP	hsa-miR-519a-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1055/s-0033-1361832	RT-PCR
UP	hsa-miR-10b-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0176493	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-363-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0176493	microarray; RT-PCR

UP	hsa-miR-149-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0176493	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-16566-0	RT-PCR
UP	hsa-miR-3960	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-193a-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-520f-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-376a-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-494-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-5701	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-150-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-365b-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-101-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-497-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-203b-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-22-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-382-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-299-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-519d-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-369-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-154-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-515-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-101-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-339-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-151a-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-374a-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-141-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-500a-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-330-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-362-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-504-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3074-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3614-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-5699-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-99b-5p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-188-3p	PLACENTA	FGR	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-192-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-214-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-148b-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-370-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR

DOWN	hsa-miR-92a-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-7-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-362-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-942-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1225-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-let-7d-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-491-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-758-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1290	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-502-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-15b-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-30d-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-9-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-551b-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-27a-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-137-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-25-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-889-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-516b-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-33a-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-597-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-10a-5p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-508-3p	PLACENTA	GDM	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1159/000430349	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-93-5p	PLACENTA	HYPOXIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-205-5p	PLACENTA	HYPOXIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-224-5p	PLACENTA	HYPOXIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-335-5p	PLACENTA	HYPOXIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	HYPOXIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization

DOWN	hsa-miR-451a	PLACENTA	HYPOXIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-491-5p	PLACENTA	HYPOXIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.1096/fj.09-149724	Microarray; RT-PCR; Northern Blot; In situ hybridization
UP	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.4892	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-143-3p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.4892	RT-PCR
UP	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/jp.2014.58	RT-PCR
UP	hsa-miR-16-5p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/jp.2014.58	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-143-3p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.4892	RT-PCR
UP	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.4892	RT-PCR
UP	hsa-miR-483-3p	PLACENTA	MACROSSOMIA		3rd TRIMESTER	DOI: 10.1093/molehr/gay027	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-100-5p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-185-5p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-487a-3p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1269a	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1285-3p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-181	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-214-3p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-296-5p	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-520h	PLASMA E PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	2nd TRIMESTER	DOI: 10.1210/jc.2017-00089	RT-PCR
UP	hsa-miR-210	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/ijo.2015.45	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-146a	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-210	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-222-3p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-20a-5p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR

UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-222-3p	PLACENTA	MATERNAL OBESITY/ BMI	HIGH	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04026-8	RT-PCR
UP	hsa-let-7a-2-5p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-520a-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-664a-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-4737	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-3177-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-483-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-4433b-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-130b-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-142-5p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-941-1	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-342-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-222-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-26a-2-5p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR-92a-1-3p	PLASMA	PB		1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210/en.2018-00836	RNAseq
UP	hsa-miR223	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-302b	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1253	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548a	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548ai	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548aa	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548ak	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548n	PLASMA	PB		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-00713-8	RT-PCR
UP	hsa-miR-515-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-516b-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-517-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-518f-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-519a-3p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-519e-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-520a-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-520h	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-524-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-525-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR

UP	hsa-miR-526b-5p	PLACENTA	PB		3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2017.7067	RT-PCR
UP	hsa-miR-517-5p	PLASMA	PE		1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0171756	RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLASMA	PE		1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0171756	RT-PCR
UP	hsa-miR-520h	PLASMA	PE		1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0171756	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-18a-5p	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-19b-1	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-17	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-195	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-218	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-223-3p	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-92a-1	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-379	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-411	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR30a-3p	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-524	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-17-3p	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-151	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-210	PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02647	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-let-7b*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-let-7f-1*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-10b*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1225-3p	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-125a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1273c	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1275	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1539	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-18b*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-191*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-2116*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-23c	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-30c-1*	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3162	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3163	PLASMA E PLACENTA	PE		2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR

DOWN	hsa-miR-3180-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-33b*	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-345	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3663-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-370	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-422a	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-425*	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-509-3-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-513b	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-550a	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-614	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-650	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-662	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-718	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-874	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-933	PLASMA E PLACENTA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.019	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-137	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER		DOI: 10.1177/1933719116650754	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-152	SORO	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.3892/br.2015.524	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-183	SORO	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.3892/br.2015.524	RT-PCR
UP	hsa-miR-210	SORO	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.3892/br.2015.524	RT-PCR
UP	hsa-miR-486-1-5p	PLASMA	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1210/jc.2017-00672	RNAseq
UP	hsa-miR-486-2-5p	PLASMA	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1210/jc.2017-00672	RNAseq
UP	hsa-miR-885-5p	PLASMA	PE	1st, 2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1111/1471-0528.13903	RT-PCR, ELISA
UP	hsa-miR-136	PLASMA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.abb.2018.09.023	RT-PCR
UP	hsa-miR-494	PLASMA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.abb.2018.09.023	RT-PCR
UP	hsa-miR-495	PLASMA	PE	2nd AND TRIMESTER	3rd	DOI: 10.1016/j.abb.2018.09.023	RT-PCR
UP	hsa-miR-210	SORO	PE	2nd TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.07.021	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-144-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER		DOI: 10.3892/mmr.2019.10150	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-1233-3p	SORO	PE	1st TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.tjog.2014.03.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-520	SORO	PE	1st TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.tjog.2014.03.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-210	SORO	PE	1st TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.tjog.2014.03.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-144-3p	SORO	PE	1st TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.tjog.2014.03.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-98-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-222-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER		DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR

UP	hsa-miR-155-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-296-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-29b-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.013	RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1166/jnn.2012.6196	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-149-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1166/jnn.2012.6196	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-221-3p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1166/jnn.2012.6196	RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-93-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gam006	RT-PCR, northern blotting
DOWN	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1093 / molehr / gam006	RT-PCR, northern blotting
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-155-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-181b-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-182-3p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-200b-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-154-3p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-183-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.ajog.2007.01.008	RT-PCR
UP	hsa-miR-16-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-29b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-195-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-26b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-335-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-222-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/CCLM.2009.228	microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-15b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
DOWN	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
DOWN	hsa-miR-200c-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
UP	hsa-miR-296-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
DOWN	hsa-miR-377-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
UP	hsa-miR-483-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
DOWN	hsa-miR-493-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719110374115	Microarray
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-16-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-195-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-222-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-154-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-let-7b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-302c-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR

UP	hsa-miR-10400-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-128-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-182-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-133b	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1515/jpm.2011.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/j.1582-4934.2011.01291.x	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.04.035	RT-PCR
UP	hsa-let-7d-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2011.07.029	RNAseq
UP	hsa-let-7f-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2011.07.029	RNAseq
UP	hsa-miR-223-3p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cca.2011.07.029	RNAseq
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-193b-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-144-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-193b-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-18a-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-185-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-19a-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-590-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-142-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-451a	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-22-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-526b-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-520a-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-10b-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-20a-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-518f-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-146b-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-517c-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-518c-3p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-525-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-519e-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-126-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.180232	/ RNA-seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-20b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-516a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-512-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-2277-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR

UP	hsa-miR-524-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-151a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-192-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-34c-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1210 / jc.2011-3131	microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-378a-5p	PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1242 / jcs.096412	RT-PCR
UP	hsa-miR-325	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892 / mmr.2012.954	RT-PCR
UP	hsa-miR-29b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042 / CS20120121	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-195-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371 / journal.pone.0038875	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2012.07.002	Western Blots
UP	hsa-miR-503-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.04.007	RT-PCR
UP	hsa-miR-483-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.04.007	RT-PCR
UP	hsa-miR-149-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.placenta.2013.04.007	RT-PCR
UP	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1095 / biolreprod.113.110049	Microarray, RT-PCR
UP	hsa-miR-92b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-197-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-342-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-296-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-26b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-25-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-296-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-26a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-198	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-202-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-191-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-95-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-204-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
DOWN	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
DOWN	hsa-miR-223-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2013.06.006	RT-PCR; microarray
UP	hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.4161/epi.26196	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-101-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/jhh.2014.35	RT-PCR
UP	hsa-miR-155-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2014.2214	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03530	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-223-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.07.002	RNAseq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-224-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.07.002	RNAseq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1301-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.07.002	RNAseq; RT-PCR

UP	hsa-miR-20a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.7150/ijbs.9088	RT-PCR
UP	hsa-miR-125b-1-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.09.059	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-126-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/0300060514540627	RT-PCR
UP	hsa-miR-1-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-16-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-19b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-20a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-125b-1-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-182-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-1469	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-29a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-200c-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-335-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-363-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-584-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-miR-744-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
DOWN	hsa-mir-1826	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.11.020	Microarray
UP	hsa-miR-516b-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0113735	RT-PCR
UP	hsa-miR-517-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0113735	RT-PCR
UP	hsa-miR-520h	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0113735	RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0113735	RT-PCR
UP	hsa-miR-126-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-126-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-130a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-135b-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-142-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-149-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-188-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-18a-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-18b-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-203a-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-205-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-224-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-27a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-29a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq

UP	hsa-miR-301a-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
	hsa-miR-517c-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-518a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-518e-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-519d-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-93-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.3414	RNA-Seq
UP	hsa-miR-517a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0122707	RT-PCR
UP	hsa-miR-517c-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0122707	RT-PCR
UP	hsa-miR-519d-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1371/journal.pone.0120321	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-515-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1089/dna.2014.2687	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-518b	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1089/dna.2014.2687	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-520h	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1089/dna.2014.2687	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-524-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1089/dna.2014.2687	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-526a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1089/dna.2014.2687	RT-PCR
UP	hsa-miR-335-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-584-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-21-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-451a	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-17-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-152-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-135a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-182-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-96-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-32-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-377-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-126-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-182-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-362-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2015.4018	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.trsl.2016.02.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-195-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1097/HJH.0000000000000948	RT-PCR
UP	hsa-miR-515-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-31-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-518a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq

UP	hsa-miR-520a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-515-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-516a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-519e-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-193b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-4532	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-518f-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-527	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-518e-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-135b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-195-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-let-7f-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-34c-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-1-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-98-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
DOWN	hsa-miR-223-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2016.5268	RNAseq
UP	hsa-miR-15b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.03.007	RT-PCR
UP	hsa-miR-128-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2016.03.040	RT-PCR
UP	hsa-miR-149-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-299-5p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-300	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-365a-3p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-620	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-3074-3p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1260b	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2016.07.004	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.gene.2016.10.014	RT-PCR
UP	hsa-miR-125b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI.org/10.1371/journal.pone.0166940	RT-PCR
UP	hsa-miR-942-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1080/10641963.2016.1210619	RT-PCR
UP	hsa-miR-520g-5p	SORO PLACENTA ^E	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.02.001	RT-PCR
UP	hsa-miR-218-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biocel.2017.04.005	RT-PCR
UP	hsa-miR-155-5p	SORO PLACENTA ^E	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1097/MD.0000000000006509	RT-PCR
UP	hsa-miR-517a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04468-0	RT-PCR
UP	hsa-miR-517c-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04468-0	RT-PCR
UP	hsa-miR-519a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/s41598-017-04468-0	RT-PCR
UP	hsa-let-7d-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/jcb.26282	RT-PCR
UP	hsa-miR-346	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3390/ijms18071570	RT-PCR
UP	hsa-miR-582-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3390/ijms18071570	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-144-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.130	RT-PCR
UP	hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1038/jhh.2017.65	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-145-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.4149/BLL_2017_101	RT-PCR

UP	hsa-miR-299-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2017.11.053	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-3p	PLASMA	PE	2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2017.09.002	RT-PCR
UP	hsa-miR-202-3p	PLACENTA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2017.04.002	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-30a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ajog.2017.11.568	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-542-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-126-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-412-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-544b	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-3942-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-3652	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-5480-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-516a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-885-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-663b	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-1248	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-631	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-519a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-3943	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-548w	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-103a-2-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
DOWN	hsa-miR-30a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3941	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-155-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-455-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3143	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3928-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1204	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1183	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-302c-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3186-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3616-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3670	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3200-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-219a-2-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray

UP	hsa-miR-423-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-3157-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-130b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1915-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1197	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-431-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-500a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-518a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-124-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-875-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1914-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-383-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-367-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-1305	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2017.11.005	RT-PCR; Microarray
UP	hsa-miR-155-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/ijmm.2018.3367	RT-PCR
UP	hsa-miR-320a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/jog.13560	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-222-3p	SORO PLACENTA ^E	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1080/10641963.2018.1431257	RT-PCR
UP	hsa-miR-29a-3p	SORO PLACENTA ^E	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1080/10641963.2018.1431257	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-181a-5p	SORO PLACENTA ^E	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1080/10641963.2018.1431257	RT-PCR
UP	hsa-miR-203a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2018.8558	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-616-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/cpr.12490	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-218-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.07.009	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-454-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.055	RT-PCR
UP	hsa-miR-431-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.gene.2018.10.015	RT-PCR
UP	hsa-miR-454-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.cbi.2018.10.012	RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719118808916	TaqMan; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-221-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2018.10.009	RT-PCR
UP	hsa-miR-517-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.26355/eurrev_201810_16134	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548c-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/jcp.27758	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1007/s10517-017-3812-0	In situ hybridization
DOWN	hsa-miR-155-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1007/s10517-017-3812-0	In situ hybridization
UP	hsa-miR-423-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2018.12.003	RT-PCR
UP	hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-421	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-3619-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-491-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR

UP	hsa-miR-548u	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-1295a	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-221-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4504	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-892a	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-766-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4479	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4488	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-6836-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-6724-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-1250-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4638-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-581	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-5586-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4738-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-3917	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-4635	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-432-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-433-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-6770-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
UP	hsa-miR-330-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1258	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-144-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-144-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-486-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-33b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3163	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-26b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-125b-2-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3065-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4705	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-26b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4724-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4524a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR

DOWN	hsa-miR-378f	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4999-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-378d	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-378c	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-511-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-548aq-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4662a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-378i	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-203a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-5589-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-101-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-139-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-99a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-3065-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-30e-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1042/BSR20181631	Microarray; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-149-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2019.01.002	RT-PCR
UP	hsa-miR-34a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.26355/eurev 201902 16978	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-652-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1111/1440-1681.13080	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-411-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI.org/10.1590/1414-431x20197546	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-376c-5p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI.org/10.1590/1414-431x20197546	RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1113/JP277704	RT-PCR
UP	hsa-miR-200a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	1st, 2nd AND 3rd TRIMESTER	DOI: 10.1113/JP277704	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-141-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108953	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/mrd.23154	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-520c-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00011-019-01246-8	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-517-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.3390/ijms20122972	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-520a-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.3390/ijms20122972	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-525-5p	PLASMA	PE	1st TRIMESTER	DOI: 10.3390/ijms20122972	RT-PCR
UP	hsa-miR-193b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-193b-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-210-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-365a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-365a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-27a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-520a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR

UP	hsa-miR-181a-2-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
UP	hsa-miR-33b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1186/s12920-019-0548-x	RNA-Seq; RT-PCR
						Nanostring ncounter system miRNA assay
UP	hsa-miR-504-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.2147/IJN.S208865	
						Nanostring ncounter system miRNA assay
UP	hsa-miR-2113	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.2147/IJN.S208865	
						Nanostring ncounter system miRNA assay
UP	hsa-miR-374c-5p	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.2147/IJN.S208865	
DOWN	hsa-miR-320a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.3892/mmr.2019.10574	RT-PCR
UP	hsa-miR-4421	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.26355 / eurrev 201803 14557	RT-PCR
UP	hsa-miR-362-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.biopha.2018.01.089	RT-PCR
UP	hsa-miR-181a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016 / j.biopha.2018.01.089	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-424-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2019.05.017	RT-PCR
UP	hsa-miR-210-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2019.05.010	RT-PCR
UP	hsa-miR-155-5p	SORO	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.preghy.2019.05.010	RT-PCR
UP	hsa-miR-200a-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI.org/10.1016/j.abb.2019.108129	RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLASMA E PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI.org/10.1016/j.abb.2019.108129	RT-PCR
UP	hsa-miR-335-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-126-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-513a-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-936	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-3609	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-1246	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-1290	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-125a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-4299	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-3667-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-630	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-1275	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-145-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-4255	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-212-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-605-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1307-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1234-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-636	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1281	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-193a-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-96-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-877-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR

DOWN	hsa-miR-638	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-572	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-134-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4253	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-483-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-940	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-4286	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-193b-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-210-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-663a	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.lfs.2019.117008	RT-PCR
UP	hsa-miR-933	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.5603/GP.2019.0096	Microarray
UP	hsa-miR-4735-5p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.5603/GP.2019.0096	Microarray
UP	hsa-miR-5088-3p	PLACENTA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.5603/GP.2019.0096	Microarray
UP	hsa-miR-206	PLASMA	PE	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1097/MD.0000000000020319	RT-PCR
UP	hsa-miR-517a-3p	PLASMA	PLACENTA PREVIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719115589407	RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLASMA	PLACENTA PREVIA	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719115589407	RT-PCR
UP	hsa-miR-517c	PLASMA	PLACENTAL ABRUPTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1177/1933719116653837	RT-PCR
UP	hsa-miR-222-3p	PLACENTA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/mnfr.201600646	RT-PCR
UP	hsa-miR-141-3p	PLACENTA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/mnfr.201600646	RT-PCR
UP	hsa-miR-34b-5p	PLACENTA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1002/mnfr.201600646	RT-PCR
UP	hsa-miR-515-3p	PLASMA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.06.002	RT-PCR
UP	hsa-miR-517a-3p	PLASMA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.06.002	RT-PCR
UP	hsa-miR-517c-3p	PLASMA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.06.002	RT-PCR
UP	hsa-miR-518b	PLASMA	PLACENTAL DYSFUNCTION	3rd TRIMESTER	DOI: 10.1016/j.placenta.2014.06.002	RT-PCR
DOWN	hsa-miR-371a-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-486-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
UP	hsa-miR-191-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
UP	hsa-miR-24-3p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
UP	hsa-miR-100-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
UP	hsa-miR-146a-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-1-3p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR
DOWN	hsa-miR-372-5p	PLACENTA	RECURRENT MISCARRIAGE (RM)	1st TRIMESTER	DOI: 10.1007/s00404-016-4038-5	RNAseq; RT-PCR

Apêndice 3: Poster X-meeting 2019

Wanderley-Feitosa, R.M.M.¹; Gouveia G.R.¹; Lima, A.M.²; Polanczyk, G.¹; Vieira P.R.¹; Brentani, H.¹
¹Instituto de Psiquiatria do HC - FMUSP, SP, Brazil; ²EACH (Escola de Artes, Ciências e Humanidades), SP, Brazil.

e-mail: raysafeitosa@ime.usp.br

INTRODUCTION

Environmental toxic exposure during the initial phases of human development, especially the gestational period, brings consequences that can last the offspring lifetime. Among these environmental adversities, the mother's exposition to psychosocial stress is associated with a significant increase in the offspring's risk of developing various developmental problems, including cognition problems, impaired emotional reactivity and sociability, increasing the risk to psychiatric disorders. The here proposed study is part of a randomized double-blind psychosocial intervention for primigravidae in socioeconomic vulnerability regions. Notwithstanding, there is a lack of knowledge on the possible biological markers of the intervention. The present study has the goal to associate an important epigenetic factor, microRNA networks with the intervention. To this end, the final goal of the study is to perform a comparison between two interaction networks microRNAs-mRNA. The complex networks are going to be created using the differentially expressed microRNAs from two gestational times baseline (T0) e 30 weeks (T1) using RT-qPCR. One network will be created using the differentially expressed microRNAs from placental exosomes from peripheral blood of pregnant submitted to psychosocial intervention (cases), and the other network from mothers not submitted to the intervention (controls). A target prediction will be executed, using only experimentally validated miRNAs targets, and the two networks are going to be created on Cytoscape. The used databases for experimentally validated targets are going to be miRTarBase 7.0, TarBase v8.0. Different measurements collected from each network individually, using global topological properties and graph entropy are going to be compared.

MATERIAL AND METHODS

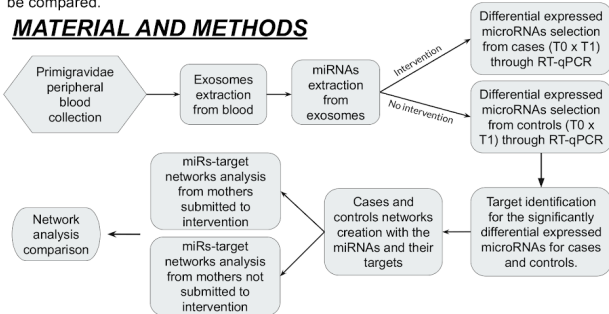
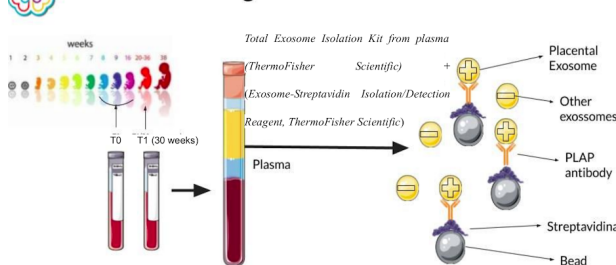


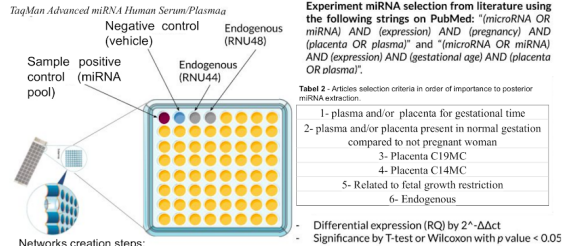
Table 1: Sample characterization of cases and controls on the baseline.

	Control		Cases		P value
	n = 36	mean	n = 36	mean	
Escolaridade				0,7124	
Mother weight		57,6		58,33	0,7954
Beck Depression Inventory		11,72		12,975	0,482
Beck Anxiety Inventory		9,425		11,4	0,2375
Ingesta alcohol		13		15	0,8147
Tabaco		6		10	0,4017
Familiar Income				0,7124	
	1 a 3	7	9		
	4 a 6	26	24		
	7 or more	3	3		

Blood collecting and exosome extraction



Exosome MicroRNA extraction from the exosomes and measurement of differential expression

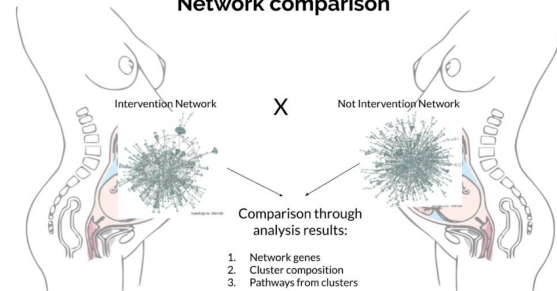


Networks creation steps:

- Target Identification by miRTarBase 7.0 e TarBase v8;
- R Studio (version 3.4.4); table filtering using the validated miR-targets databases;
- Cytoscape.



Network comparison



PRELIMINARY RESULTS

Figure 1: SSC X-FSC from flow cytometry identifying the exosomes bounded to the beads through the CD63 receptor binding.

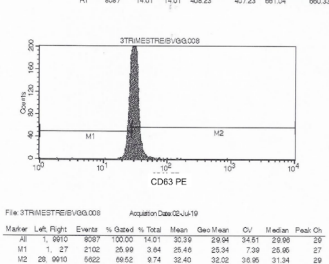
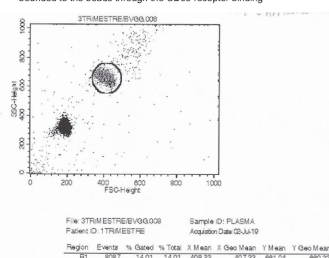
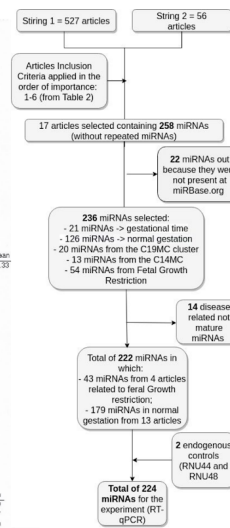


Figure 2: (Flowchart) miRNAs selection for the literature for the TagMan Advanced miRNA Human Serum/Plasma



Key words: complex networks. microRNA. prenatal. gestation. psychosocial intervention.
Supported by: FAPESP and CNPq .

Apêndice 4: Tabela com os 198 miRNAs modularizados pelo programa em C++, a quantidade de módulos e interações que cada um participa.

Tabela A4: Contando os módulos não redundantes, a tabela mostra os 20 miRNAs mais modularizados e a quantidade de interações destes de acordo com a miRTarBase 7.0 com no mínimo 2 evidências. A tabela está ordenada em ordem decrescente de acordo com o número de módulos que cada um dos 198 miRNAs participa.

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
1	hsa-miR-93-5p	1983	334
2	hsa-miR-20a-5p	1963	298
3	hsa-miR-17-5p	1823	316
4	hsa-miR-519d-3p	1637	267
5	hsa-miR-20b-5p	1441	269
6	hsa-miR-16-5p	1193	369
7	hsa-miR-195-5p	1079	224
8	hsa-miR-15b-5p	941	225
9	hsa-miR-526b-3p	821	219
10	hsa-miR-519c-3p	817	151
11	hsa-miR-130a-3p	698	150
12	hsa-miR-424-5p	675	191
13	hsa-miR-130b-3p	584	162
14	hsa-miR-372-3p	573	108
15	hsa-miR-497-5p	508	186
16	hsa-miR-373-3p	466	110
17	hsa-miR-34a-5p	454	90
18	hsa-miR-21-5p	429	101
19	hsa-miR-519b-3p	419	149
20	hsa-miR-25-3p	358	121
21	hsa-let-7a-5p	356	138
22	hsa-miR-503-5p	338	84
23	hsa-miR-92b-3p	331	145
24	hsa-miR-26a-5p	313	71

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
25	hsa-miR-181a-5p	313	87
26	hsa-miR-520a-3p	290	100
27	hsa-miR-29b-3p	253	69
28	hsa-miR-101-3p	231	92
29	hsa-miR-34c-5p	221	38
30	hsa-miR-214-3p	211	47
31	hsa-miR-221-3p	198	48
32	hsa-miR-34b-5p	194	28
33	hsa-miR-335-5p	187	50
34	hsa-miR-449a	187	40
35	hsa-miR-148a-3p	179	47
36	hsa-miR-142-5p	170	73
37	hsa-miR-363-3p	170	112
38	hsa-miR-204-5p	167	43
39	hsa-miR-1-3p	166	152
40	hsa-miR-18a-5p	157	42
41	hsa-miR-155-5p	151	153
42	hsa-miR-200c-3p	150	53
43	hsa-miR-142-3p	144	73
44	hsa-miR-145-5p	134	48
45	hsa-miR-520h	130	68
46	hsa-miR-29a-3p	123	60
47	hsa-miR-30d-5p	114	56
48	hsa-miR-362-3p	108	262
49	hsa-miR-185-5p	107	78
50	hsa-miR-365a-3p	101	30
51	hsa-miR-143-3p	97	48
52	hsa-miR-122-5p	95	83

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
53	hsa-miR-494-3p	94	28
54	hsa-miR-200b-3p	78	51
55	hsa-miR-30e-5p	73	57
56	hsa-miR-223-3p	69	22
57	hsa-miR-193b-3p	66	58
58	hsa-miR-148b-3p	64	42
59	hsa-miR-524-5p	63	36
60	hsa-miR-125b-5p	63	61
61	hsa-miR-196b-5p	61	34
62	hsa-miR-10b-5p	61	39
63	hsa-miR-495-3p	60	45
64	hsa-miR-224-5p	59	26
65	hsa-miR-410-3p	56	107
66	hsa-miR-18a-3p	52	23
67	hsa-miR-539-5p	51	46
68	hsa-miR-491-5p	50	33
69	hsa-miR-218-5p	50	52
70	hsa-miR-202-3p	47	62
71	hsa-miR-143-5p	38	70
72	hsa-miR-22-3p	38	30
73	hsa-miR-140-5p	38	17
74	hsa-miR-23a-3p	37	47
75	hsa-miR-141-3p	35	23
76	hsa-miR-126-5p	34	25
77	hsa-miR-376c-3p	34	26
78	hsa-miR-335-3p	34	56
79	hsa-miR-199b-5p	33	21
80	hsa-miR-520f-3p	33	20

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
81	hsa-miR-199a-5p	32	34
82	hsa-miR-146a-5p	31	36
83	hsa-miR-205-5p	31	24
84	hsa-miR-299-5p	29	12
85	hsa-miR-135b-5p	29	16
86	hsa-miR-342-3p	28	54
87	hsa-miR-518a-5p	28	46
88	hsa-miR-324-3p	28	22
89	hsa-miR-485-5p	26	78
90	hsa-miR-6880-5p	26	62
91	hsa-miR-381-3p	26	26
92	hsa-miR-515-5p	25	23
93	hsa-miR-515-3p	24	8
94	hsa-miR-1323	23	27
95	hsa-miR-17-3p	23	24
96	hsa-miR-590-5p	23	20
97	hsa-miR-369-3p	23	49
98	hsa-miR-380-3p	22	18
99	hsa-miR-493-5p	22	36
100	hsa-miR-1304-5p	21	26
101	hsa-miR-331-3p	20	19
102	hsa-miR-3125	20	34
103	hsa-miR-105-5p	20	14
104	hsa-miR-365b-3p	20	27
105	hsa-miR-655-3p	19	22
106	hsa-miR-6739-5p	19	40
107	hsa-miR-5703	19	32
108	hsa-miR-4506	19	14

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
109	hsa-miR-134-5p	18	19
110	hsa-miR-96-5p	18	21
111	hsa-miR-4428	18	31
112	hsa-miR-197-3p	17	43
113	hsa-miR-483-3p	17	26
114	hsa-miR-3910	17	28
115	hsa-miR-520a-5p	16	22
116	hsa-miR-154-3p	16	8
117	hsa-miR-411-3p	16	19
118	hsa-miR-519d-5p	16	11
119	hsa-miR-485-3p	15	16
120	hsa-miR-6857-5p	15	18
121	hsa-miR-519e-3p	15	7
122	hsa-miR-411-5p	14	42
123	hsa-miR-146b-5p	14	20
124	hsa-miR-1304-3p	14	49
125	hsa-miR-126-3p	12	14
126	hsa-miR-323a-3p	12	15
127	hsa-miR-299-3p	12	21
128	hsa-miR-146a-3p	11	34
129	hsa-miR-193b-5p	11	37
130	hsa-miR-379-5p	11	25
131	hsa-miR-140-3p	11	40
132	hsa-miR-512-5p	11	15
133	hsa-miR-376b-3p	11	18
134	hsa-miR-1225-3p	11	39
135	hsa-miR-516b-5p	10	17
136	hsa-miR-889-3p	9	17

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
137	hsa-miR-1225-5p	9	15
138	hsa-miR-4773	8	22
139	hsa-miR-3921	8	17
140	hsa-miR-4514	8	26
141	hsa-miR-34b-3p	7	25
142	hsa-miR-3065-5p	7	28
143	hsa-miR-154-5p	7	17
144	hsa-miR-433-3p	7	13
145	hsa-miR-371a-5p	7	37
146	hsa-miR-376a-2-5p	7	16
147	hsa-miR-484	6	23
148	hsa-miR-210-3p	6	26
149	hsa-miR-141-5p	6	20
150	hsa-miR-519e-5p	6	23
151	hsa-miR-6857-3p	6	26
152	hsa-miR-758-5p	6	13
153	hsa-miR-3679-5p	6	11
154	hsa-miR-924	6	17
155	hsa-miR-493-3p	6	17
156	hsa-miR-330-5p	5	18
157	hsa-miR-6821-3p	5	16
158	hsa-miR-33b-3p	5	7
159	hsa-miR-518f-5p	4	13
160	hsa-miR-539-3p	4	16
161	hsa-miR-487a-3p	4	8
162	hsa-miR-487a-5p	4	11
163	hsa-miR-365a-5p	4	11
164	hsa-miR-184	3	11

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
165	hsa-miR-99a-5p	3	11
166	hsa-miR-525-5p	3	21
167	hsa-miR-518c-5p	3	8
168	hsa-miR-659-3p	3	13
169	hsa-miR-758-3p	3	11
170	hsa-miR-5002-5p	3	13
171	hsa-miR-10b-3p	3	14
172	hsa-miR-27a-5p	3	8
173	hsa-miR-127-5p	3	13
174	hsa-miR-520c-5p	3	13
175	hsa-miR-100-5p	2	8
176	hsa-miR-210-5p	2	6
177	hsa-miR-191-5p	2	7
178	hsa-miR-149-5p	2	11
179	hsa-miR-136-5p	2	12
180	hsa-miR-574-3p	2	9
181	hsa-miR-1246	2	10
182	hsa-miR-362-5p	2	10
183	hsa-miR-432-5p	2	9
184	hsa-miR-337-3p	2	12
185	hsa-miR-378a-3p	2	8
186	hsa-miR-5002-3p	2	9
187	hsa-miR-451a	1	6
188	hsa-miR-370-3p	1	12
189	hsa-miR-518f-3p	1	4
190	hsa-miR-517a-3p	1	3
191	hsa-miR-6845-5p	1	11
192	hsa-miR-526b-5p	1	12

Contagem	miRNA	Modules	Interactions
193	hsa-miR-22-5p	1	15
194	hsa-miR-518b	1	4
195	hsa-miR-517b-3p	1	3
196	hsa-miR-381-5p	1	4
197	hsa-miR-433-5p	1	3
198	hsa-miR-181a-2-3p	1	11

**Apêndice 5 - Artigo de revisão miRNA placentários em desenvolvimento.
Em vermelho o que ainda falta.**

Placental miRNAs as Maternal-fetal cross-talk mediators

Gisele Rodrigues Gouveia¹, Rayssa M. M. W. Feitosa², Verônica L. V. Euclides¹, Rafaela da Silva Mendes¹, Thaina Oliveira Nogueira¹, Vinicius Daguano Gastaldi¹, Ariane Machado-Lima^{2,3}, Helena Brentani¹

*Gisele and Rayssa contributed equally to this manuscript

1. Department & Institute of Psychiatry, University of Sao Paulo Medical School, Sao Paulo, SP, Brazil.
2. Inter-institutional Grad Program in Bioinformatics, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.
3. School of Arts, Sciences and Humanities, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

Corresponding author: Helena Brentani. Department & Institute of Psychiatry, University of São Paulo Medical School, Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785 – Térreo - Cerqueira César, 05403-010 - São Paulo, SP, Brazil, Phone: 55 11 2661-6958, helena.brentani@gmail.com

Conflicts of interest: The authors declare no conflict of interest.

Abstract

Keywords: Maternal-fetal cross-talk, miRNAs, placenta, exosomes.

1- Introdução

MicroRNAs (miRNAs) são pequenos RNAs não codificantes, que funcionam como reguladores pós-transcricionais da expressão gênica, primariamente promovendo a degradação do RNA mensageiro (mRNA) e a inibição da tradução. Estas moléculas estão envolvidas na regulação de vários processos celulares essenciais, como migração, proliferação e apoptose. Além disso, atuam como reguladores de genes importantes para controlar vários eventos fisiológicos, incluindo o desenvolvimento placentário (Fu *et al.*, 2013; Maccani *et al.*, 2013).

A placenta, além de ser um órgão essencial para a secreção de hormônios e suporte de oxigênio e nutrientes para o feto, desempenha um papel crucial na troca de informações entre o organismo materno e fetal, conhecida como *maternal fetal cross-talking*. Este processo é essencial para que não ocorra a rejeição do feto, possibilitando a adaptação materna à gestação e a regulação do crescimento e desenvolvimento fetal (Mincheva-Nilsson e Baranov, 2010; Sarker *et al.*, 2014; Nelson, 2015, Adam *et al.*, 2017, Czernek e Döchler, 2020).

Mais de 800 miRNAs foram descritos como expressos na placenta humana, sendo que muitos deles formam *clusters*, localizados principalmente nos cromossomos 19 (C19MC) e 14 (C14MC) (Takahashi *et al.*, 2014). Além disso, moléculas-chave envolvidas na biogênese de miRNAs, como Drosha, Exportin 5, Dicer, Argonauta 2 (Ago2) e DP103, também foram identificadas em células trofoblásticas, confirmando que a via de biogênese de miRNAs é ativa na placenta humana (Fu *et al.*, 2013).

O C19MC é o maior agrupamento de miRNAs do genoma humano e contém 46 pri-miRNA, que produzem 59 miRNAs maduros, encontrados exclusivamente em primatas (Ouyang *et al.*, 2013).

Os níveis de expressão destes miRNAs variam com os estágios de desenvolvimento da placenta. De forma geral, a expressão dos miRNAs do cluster C19CM é identificada a partir da quinta semana (Sadovsky *et al.*, 2015) e aumenta progressivamente ao longo da gestação, enquanto a expressão dos miRNAs do cluster C14CM diminui (Morales-Prieto *et al.*, 2012).

Os miRNAs expressos no primeiro trimestre foram relacionados a respostas imunossupressoras adaptativas para proteger o feto de insultos do organismo materno e à condição fisiológica de hipóxia, necessária para o desenvolvimento placentário inicial. Já os miRNAs expressos no terceiro trimestre foram relacionados com limitação do crescimento vascular placentário, promoção de diferenciação celular de células progenitoras hematopoiéticas e supressão tumoral (Gu *et al.*, 2013).

MicroRNAs produzidos por células trofoblásticas humanas podem ser secretados na circulação materna e são protegidos da degradação de RNases por associação com proteínas, principalmente Ago2, ou por encapsulação em vesículas extracelulares, incluindo exossomos (Luo *et al.*, 2009; Fu *et al.*, 2013). Porém, ainda não é totalmente conhecido se apenas uma pequena fração dos miRNAs circulantes é transportada dentro dos exossomos e se os mesmos miRNAs transportados por vesículas estão livres na circulação (Gebert & MacRae, 2019).

Os exossomos de origem placentária são os mais bem caracterizados e estudados até o momento (Kurian e Modi, 2019; Hadley *et al.*, 2018). Além de expressarem em sua membrana os marcadores exossomo-específicos CD63, CD9 e CD81, expressam também a proteína fosfatase alcalina placentária (PLAP), que confirma a origem tecidual (Mincheva-Nilsson e Baranov, 2010). Apesar da fosfatase alcalina ser encontrada em diversos tecidos humanos, como no fígado, ducto biliar, rim, osso e mucosa intestinal, a proteína de membrana integral PLAP, exclusiva da placenta, não possui os últimos 24 aminoácidos, o que a difere das demais fosfatases alcalinas, e apresenta como características: estabilidade térmica, especificidade ao substrato e resistência à inativação química (Jin e Menon, 2018).

Os miRNAs específicos da placenta têm sido associados a complicações gestacionais, incluindo pré-eclâmpsia, diabetes gestacional, restrição do crescimento fetal, obesidade materna e risco de aborto, sendo identificados miRNAs diferencialmente expressos entre casos e controles. Porém, o papel destes miRNAs como potenciais biomarcadores de diagnóstico precoce ainda precisam ser melhor explorados, uma vez que podem ser importantes para a prevenção de complicações para a mãe e o feto (Iljas *et al.*, 2017).

Diferentes matrizes biológicas e estratégias têm sido utilizadas para estudo de miRNAs específicos da gestação. A maioria dos estudos analisam o perfil de expressão de miRNAs diretamente no tecido placentário. Já os estudos que buscam por miRNAs circulantes utilizam as seguintes estratégias: pesquisam no plasma ou soro miRNAs previamente identificados nos tecidos placentários (Kotlabova *et al.*, 2011), compararam a expressão de mulheres grávidas em relação à não grávidas (Kotlabova *et al.*, 2011), compararam a expressão do mesmo miRNA antes e após o parto (Chim *et al.*, 2008; Luo *et al.*, 2009) ou separaram exossomos e mais recentemente, exossomos específicos da placenta no plasma materno.

Devido à esta grande diversidade de dados, o objetivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura, categorizando os dados de expressão de miRNAs relacionados à gestação em cinco grupos: miRNAs expressos no tecido placentário, miRNAs expressos na circulação materna, miRNAs expressos tanto na placenta como na circulação materna, miRNAs provenientes de exossomos e miRNAs provenientes de exossomos placentários. Ainda, para cada um destes grupos, descrever sempre que possível o período gestacional (em trimestres) bem como se o miRNA foi descrito em gestação saudável ou patológica, separando por patologia. A partir das listas de miRNAs nosso segundo objetivo é fazer análises de predição de genes alvo bem como explorar se o enriquecimento funcional obtido é diferente entre os grupos propostos.

2- Métodos

2.1- Levantamento e categorização dos dados de expressão de miRNAs durante a gestação.

Para desenvolvimento desta revisão, foram realizadas pesquisas na ferramenta PubMed para acesso à base de dados MEDLINE (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), utilizando diferentes palavras-chave para abranger o maior número de estudos possíveis sobre expressão de miRNAs durante a gestação (tabela 1).

Tabela 1- Descritores utilizados para busca e seleção de artigos no PubMed.

	Search term	Results
#1	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND (Placenta*[Title/Abstract] OR Gestation*[Title/Abstract] OR Pregnant*[Title/Abstract])	1284
#2	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title])AND (trophoblast*[Title])	200
#3	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND ("fetal circulation" OR "fetal exosomes" OR "fetal blood" OR "fetal programing")	98
#4	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND (maternal*[Title/Abstract] OR fetal[Title/Abstract]) AND (communicat*[Title/Abstract] OR exchange*[Title/Abstract] OR interac*[Title/Abstract])	183
#5	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND ("maternal metabol*" OR "maternal nutrition") AND (fetal)	7
#6	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND (aborti*[title/Abstract] OR miscarriage[Title/Abstract])	95
#7	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND (Preeclamp*[title] OR pre-eclamp*[title] OR PE[title])	261
#8	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title]) AND (Gestational Diabetes*[Title] OR GDM[Title])	71
#9	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title])AND (Fetal growth Restriction*[Title] OR FGR[Title])	12
#10	(microRNA*[Title] OR miRNA*[Title] OR miR[title])AND (Preterm Birth*[Title] OR PB[Title])	18

A seguir foram incluídos alguns filtros da própria ferramenta de busca para seleção inicial dos artigos: exclusão de todos os estudos de revisão (com exceção de revisões sistemáticas ou meta-análises); exclusão de trabalhos em modelo animal, uma vez que a expressão de miRNAs não segue o mesmo padrão em todas as espécies e exclusão de trabalhos publicados antes de 2007, por ser este o ano a partir do qual os miRNAs foram descritos pela primeira vez em exossomos. A segunda seleção foi feita a partir da leitura do título e resumo dos artigos. Todos os artigos que atenderam aos critérios de busca foram lidos na íntegra para identificação e fichamento dos miRNAs diferencialmente expressos em humanos durante gestações normais ou complicadas já descritos na literatura atual (Figura 1).

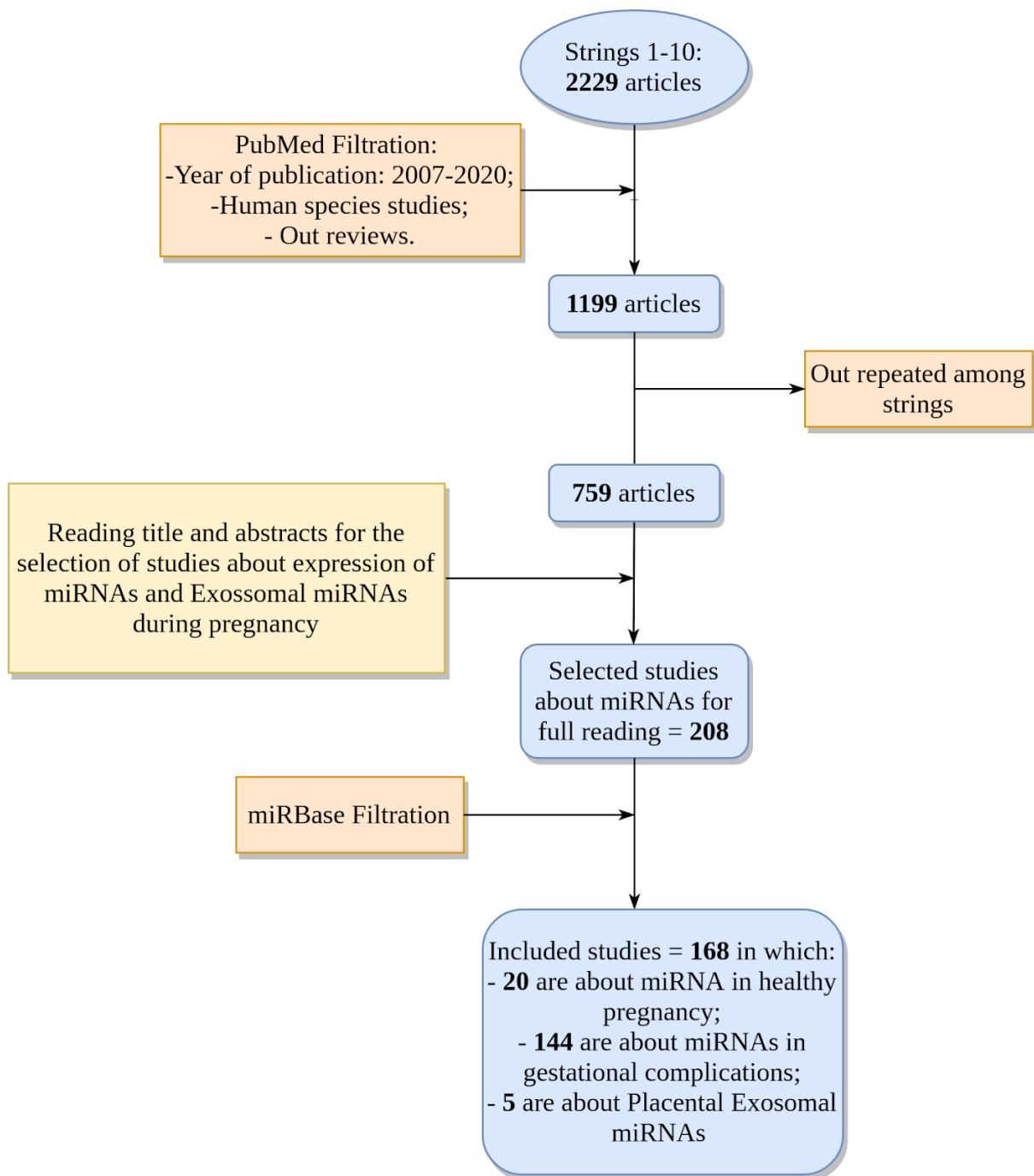


Fig. 1- Flowchart of the procedure for article selection.

Todos os miRNAs descritos nos artigos selecionados foram conferidos no banco de dados oficial de anotação de miRNAs - miRBase (www.mirbase.org) para verificar o nome atual do miRNA e sua veracidade, já que algumas sequências descritas anteriormente como miRNAs, são na verdade partes de outros RNAs. Nos casos de nomes desatualizados, foram

vistas as identidades anteriores para realizar a atualização do nome e quando não foi possível, o miRNA foi desconsiderado.

Como as estratégias de avaliação da expressão gênica podem ser muito diferentes, para todos os estudos selecionados, além de informações sobre os níveis de expressão (up ou down) de cada miRNA descrito, foram também avaliados dados sobre tipo de amostra biológica utilizado, período gestacional em que foi realizado a coleta, se a gestação era normal ou se havia algum tipo de complicação gestacional envolvida no estudo, bem como informações sobre a plataforma de expressão e métodos de análise de dados utilizados nos experimentos.

As informações acima foram organizadas em tabelas tanto para gestações normais como para gestações complicadas e, com auxílio do software R, foi verificado a reprodutibilidade em diferentes estudos da expressão de miRNAs na mesma condição, níveis de expressão (up ou down), tipo de amostra utilizada (tecido placentário, plasma, soro, exossomos ou exossomos específicos da placenta isolados da circulação materna), período gestacional em que foi realizada a avaliação, com ênfase nos miRNAs que mais se repetiram entre diferentes estudos.

2.2- Predição de alvos e enriquecimento funcional.

Após a organização das tabelas contendo os dados de revisão da literatura, realizamos a predição e enriquecimento. Estas análises foram realizadas apenas em estudos que avaliaram pacientes com DMG e/ou PE em relação à gestações normais, por serem os únicos estudos disponíveis até o momento que apresentaram resultados para todos os cinco grupos propostos.

Para predição de alvos dos miRNAs diferencialmente expressos foi utilizada a mirTarBase (Base de dados contendo interações validadas experimentalmente entre miRNAs-mRNAs), considerando apenas interações presentes em mais de três estudos diferentes. Os genes alvo foram submetidos à análise de enriquecimento utilizando o ClusterProfiler (Yu et al., 2012) no software R, o qual acessa Gene Ontology (GO) for biological process, cellular components and molecular functions (<http://www.geneontology.org/>), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)

(<http://www.genome.jp/kegg>) e REACTOME (<https://reactome.org>). Os resultados obtidos para as três categorias foram então comparados para verificar se o enriquecimento funcional obtido se manteve entre os grupos.

3- Resultados

3.1- Compilação de miRNAs expressos durante a gestação normal ou complicada previamente descritos na literatura

Dos artigos selecionados para esta revisão apenas 16 descreveram miRNAs provenientes de exossomos totais e 6 miRNAs provenientes de exossomos específicos da placenta. Os demais, analisaram a expressão de miRNAs na circulação materna ou tecido placentário, sem incluir o passo prévio de separação de exossomos.

Vários estudos que avaliaram expressão de miRNAs em gestação normal demonstraram que miRNAs específicos da placenta são abundantes no plasma materno e que seus níveis de expressão variam ao longo da gestação (Luo et al., 2009; Miura et al., 2010 e Homadrikova et al., 2012). Porém, para gestação normal, foram encontrados apenas estudos que avaliaram miRNAs diretamente no tecido placentário, no plasma/soro ou em ambos os tecidos ao mesmo tempo, mas não em exossomos ou exossomos específicos da placenta. Mais detalhes sobre os miRNAs expressos durante a gestação normal, incluindo período gestacional e plataforma de expressão utilizada podem ser observados na figura 02 e tabela suplementar 1.

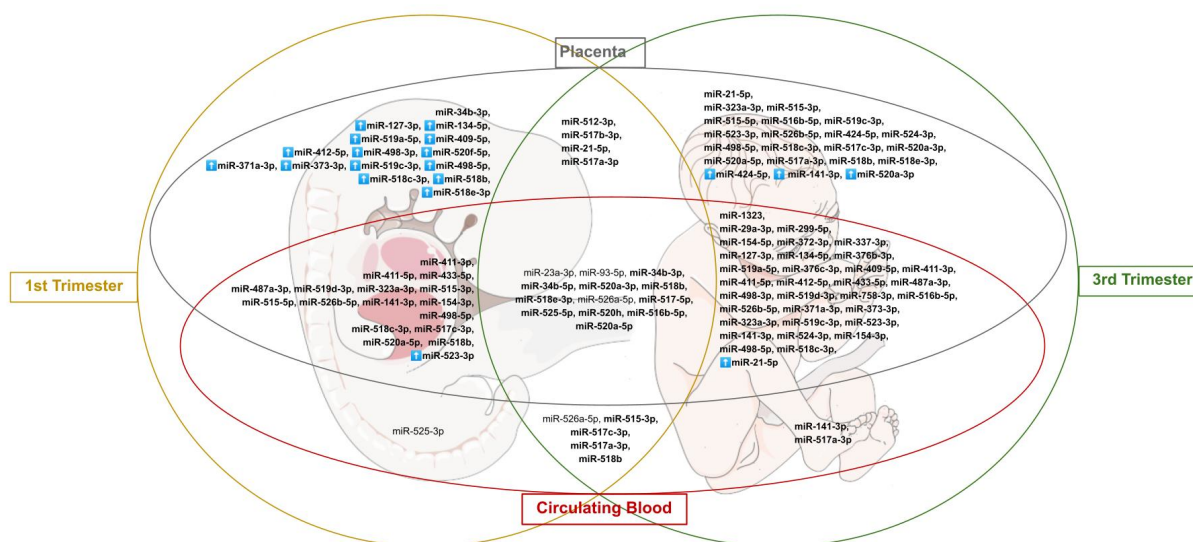


Fig. 2- MiRNAs expression in placenta and/or circulating blood (serum and plasma), in the first and/or third trimester.

The miRNAs found in more than two studies* are in bold type, The upwards pointing arrows (↑) represents that the miRNA was found upregulated in 1st or 3rd trimester comparing one another.

Notes:

1. On the search many other microRNAs were found, but for the image we only considered the microRNAs that appeared in at least two studies. For this, those that appeared in more than two studies are in bold type. The whole list, including miRNAs that did not inform the period of sample collection, is available in supplementary material (table S1).

2. *With one exception, In Placenta and 3rd trimester we only included miRNAs that appeared in more than 4 studie for visualization purposes as there were too many miRNAs.

3. All of the miRNAs added were checked on the miRbase.org considering previous ID and had its name actualized according to the newest version. Those not present in the database were excluded from our results.

4. The miRNAs that were found in more than two studies that were presented in just one of the studies upregulated (comparing trimesters), were considered repeated (bold) and represented in the imagem with the “ ↑ ”. (For more details, complete information is available on table S1 in supplemental material.)

Conforme descrito anteriormente, miRNAs específicos da placenta foram descritos como potenciais marcadores não invasivos de complicações gestacionais, sendo diferencialmente expressos entre casos e controles. Os principais miRNAs diferencialmente expressos nas principais complicações gestacionais identificados durante esta revisão da literatura são representados na figura 3 e na tabela suplementar 2.

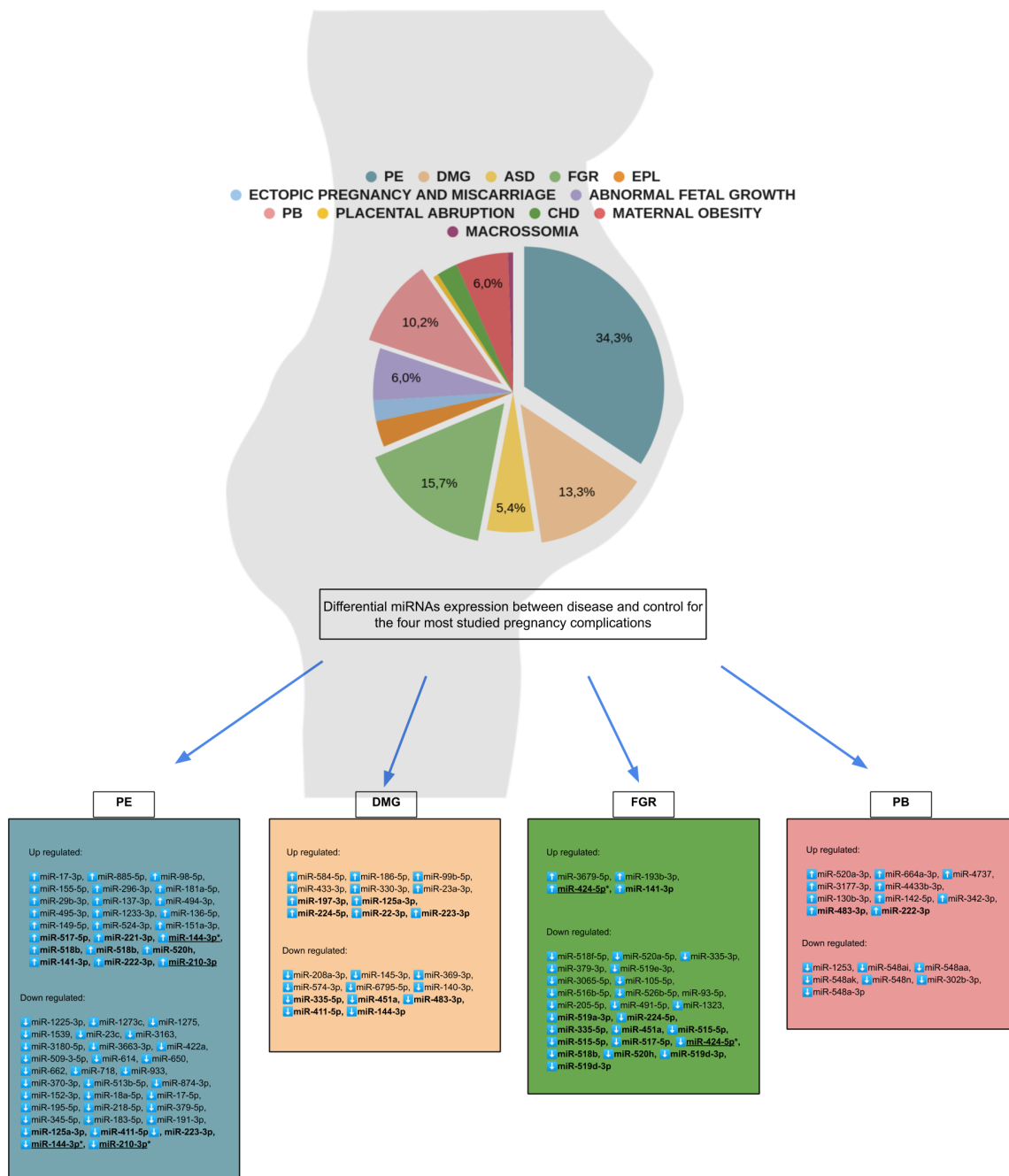


Fig. 3- MiRNAs differential expression in pregnancy complications.

Notes: The pie chart represents the percentage of miRNAs found for each condition compared to all. The miRNAs found for the four more researched pregnancy complications (which also contained the majority of the miRNAs found) is shown.

The miRNAs found in more than one study are in bold type. The upwards pointing arrows (↑) represents that the miRNA was found upregulated in disease comparing to control, whereas the downwards pointing arrows (↓), precedes the down regulated miRNAs.

Underrescored miRNAs are those that were found in two studies or more for the same condition (for more details and references, go to table 2 in supplemental material).

* represents that differentially expressed miRNA were found Up and Down for the same condition, compared to control, in different studies. PE = Preeclampsia, DMG = Gestational Diabetes mellitus, ASD

= Alcohol Spectrum Disorder, FGR = Fetal Growth Restriction, EPL = Early Pregnancy Loss, PB = Preterm Birth, CHD = Congenital Heart Effects.

Para casos de gestação complicada, conseguimos identificar artigos que avaliaram a expressão diferencial de miRNAs entre casos e controles, utilizando as diferentes estratégias, divididas nos cinco grupos propostos pelo presente artigo (miRNAs expressos diretamente no tecido placentário, miRNAs circulantes livres, miRNAs expressos tanto em tecido placentário como circulantes livres, miRNAs provenientes de exossomos totais e miRNAs provenientes de exossomos específicos da placenta) apenas em pré-eclâmpsia e diabetes gestacional (Figura 4).

Fig. 4 Differentially expressed miRNAs in pre-eclampsia and gestational diabetes mellitus.

3.2- Predição de alvos e análise das vias Go e KEGG dos genes preditos em gestação complicada por Pré-eclâmpsia e Diabetes mellitus gestacional.

4- Discussão

Embora existam numerosos artigos sobre o perfil de expressão de miRNAs no tecido placentário, ainda são necessários mais estudos para analisar a presença e os níveis de expressão de miRNAs placentários na circulação materna. A maioria dos estudos disponíveis mede o miRNA plasmático total sem estratificação pelo tipo de vesícula da qual ele é proveniente ou, ainda, utilizam diferentes métodos para separar estas vesículas, o que pode resultar em diferentes purezas de separação (Sadovsky et al., 2015; Yang et al., 2020).

O número ainda pequeno de estudos que avaliam miRNAs de exossomos placentários parece estar relacionado ao fato de que o isolamento de frações exossômicas derivadas de um tipo de célula específico é, ainda, um desafio, já que o plasma contém uma mistura de exossomos derivados de muitos tipos celulares em proporções variadas, mas a grande maioria é originada de eritrócitos e plaquetas. Assim, a fração exosomal desejada pode representar apenas uma pequena fração do total (Muller *et al.*, 2014).

Além disso, existem muitas diferenças experimentais entre os artigos, incluindo as plataformas de expressão, parâmetros para normalização dos dados, diferentes tipos de amostra biológica (como plasma, soro, tecido placentário e cultura de células) e momento da gestação no qual a avaliação foi realizada (Yang et al., 2020).

As diferenças entre os principais fluidos biológicos analisados podem influenciar o resultado das análises. Wang *et al.*, (2012), ao comparar os níveis de miR circulantes no plasma e soro do mesmo paciente verificaram que em amostras de soro o nível de miR é mais elevado em comparação ao plasma. Além disso, alguns miRNAs como o miR-223, podem estar sendo expressos em células sanguíneas específicas, como megacariócitos e plaquetas (Shi *et al.*, 2015).

Essa variabilidade de concentração de miRNAs nos diferentes tipos de fluidos biológicos analisados pode, ainda, ser influenciada pelas diferentes formas de empacotamento de miRNAs em exossomos (Yang et al., 2020). Dentre os mecanismos já demonstrados estão o dependente de argonauta 2 (Ago2) relatado em células isogênicas do câncer de cólon e a fosforilação do Ago2 Ser387, que inibe a carga de alguns miRNAs nos exossomos.

Além disso, o empacotamento baseado na sequência do miRNA complementar aos RNAs não codificadores exossômicos longos (lncRNA) foi mostrado para o miR-149–3p em células de câncer de próstata. Os miRNAs podem ser direcionados aos exossomos, ainda, pelas proteínas de ligação ao RNA (RBP), que ligam *exomotifs* na extremidade 3' de miRNAs. Como acontece quando o exomotif GGAG promove o empacotamento do miR-198 por ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas A2/B1 (hnRNPA2B1) em células T primárias humanas e o *exomotif* GGCU promove o empacotamento mediado por hnRNPQ de miRNAs em hepatócitos murinos. Porém, ainda são necessários mais estudos para entender completamente os aspectos mecanicistas e funcionais dos miRNAs exossômicos (Gebert & MacRae, 2019).

Outro aspecto importante é que sabe-se que a expressão de miRNAs pode ser influenciada tanto por fatores fisiológicos maternos (como hipóxia, níveis de glicemia e pressão arterial) como por fatores ambientais (como alimentação, exposição a tóxicos e estresse psicossocial, por exemplo). Porém, não encontramos estudos que avaliem o perfil de

expressão de miRNAs provenientes de exossomos placentários na circulação materna relacionado-o com a exposição à fatores ambientais.

A maioria dos estudos também não disponibiliza os dados brutos, o que dificulta a avaliação e reprodutibilidade da análise. Muitos, também, não disponibilizam tabelas com as informações dos miRNAs estudados, que são descritos apenas nas figuras. Além disso, alguns estudos não utilizam a nomenclatura oficial de miRNAs (disponibilizada pela miRbase.org) dificultando a padronização e a identificação da fase de maturação do miRNA pesquisado (hairpin ou maduro), ou de qual fita o miRNA se origina (5p ou 3p) e por isso, antes de serem incluídos neste artigos, todos os miRNAs foram conferidos na miRbase.

Incluir discussão sobre os resultados das novas análises de enriquecimento e vias.

4- Conclusão

Até onde conhecemos, esta é a primeira revisão a reunir dados já publicados sobre os miRNAs diferencialmente expressos tanto em tecido placentário quando liberados na circulação materna ao longo da gestação tanto em condições não patológicas, como na presença das patologias ou complicações gestacionais mais frequentes e considerando possíveis interferentes nos resultados de expressão gênicas tais como idade gestacional, tipo de amostra biológica utilizada e diferentes metodologia para mensuração dos níveis de expressão de miRNA e análise de dados.

Além disso, também foi o primeiro trabalho a demonstrar que o enriquecimento funcional resultante dos alvos preditos para os miRNAs provenientes de exossomos placentários é significativamente diferente do observado para miRNAs provenientes de exossomos total ou livres na circulação materna, sugerindo um importante papel destas moléculas no cross-talk materno-fetal, mediado pela placenta.

Faz-se, ainda, necessário um maior número de estudos de expressão de miRNAs considerando estas lacunas, já que estas moléculas, além de contribuir para o entendimento do maternal fetal *cross-talk*, representam potenciais biomarcadores não invasivos para detecção precoce e prognóstico de doenças relacionadas à gestação.

Apêndice 6 - Revisão sistemática submetida para a revista “Computational Biology and Chemistry” em 5 de Outubro de 2021, aceito e em correção.

miRNA target prediction tools for animals: Where we are at and where we are going to - A Systematic Review

Rayssa M. M. W. Feitosa*², Paula Prieto-Oliveira*², Helena Brentani^{1,2}, Ariane Machado-Lima^{2,3}

* Rayssa and Paula contributed equally to this manuscript

1. Department of Psychiatry, University of Sao Paulo Medical School, Sao Paulo, SP, Brazil.
2. Inter-institutional Grad Program in Bioinformatics, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.
3. School of Arts, Sciences and Humanities, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

e-mail: ariane.machado@usp.br

Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are non-coding RNAs containing 19-26 nucleotides, and they directly regulate the translation of mRNAs by binding to them. MiRNAs participate in various physiological processes and are associated with the development of diseases, such as cancer. Therefore, understanding miRNAs regulation on targets is crucial for understanding the mechanisms of diseases and for obtaining a more suitable treatment. In animals, the base complementarity between miRNAs and the mRNA is imperfect, hindering the prediction of these targets. Thus, over the past 15 years, several computational tools have emerged for the prediction of miRNA targets in animals, generally with a focus on human expression data. Taking into account the wide range of prediction tools, a systematic review is presented here to analyze and classify these methods and features to enable the most appropriate choice according to the needs of each researcher. In this study, only articles whose methods met the inclusion and exclusion criteria established in the protocol were considered. The search was performed in November 2020, in two search engines PubMed and VHL Regional Portal. Among the initial 5325 journals found in the two searches, 78 articles were accepted, comprising 50 different tools analyzed and grouped by features and method similarities. As we limited our criteria to animals, all tools found in our search were suitable for human studies. The results demonstrated the evolution of prediction tools, including the most used features, such as alignment and thermodynamics, the methods used, as well as performance issues. It is possible to conclude that the currently available miRNA target prediction tools and methods can be aggregated with new features or other methods to improve accuracy.

Keywords Tools. miRNA. miRNA target prediction. Animals.

Declarations

Funding Master's and PhD scholarships from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) from Brazil Government. Projects also supported by the The São Paulo Research Foundation (FAPESP) grants #2020/01992-0 and #2018/18560-6.

Conflicts of interest/Competing interests No conflict of interest declared.

Availability of data and material Whole data, article selection, filters and tables with extracted information are available on the supplemental material

Code availability Not applicable

Authors' contributions: All authors designed the review protocol. Rayssa and Paula performed the search and the extraction of relevant information from articles. Rayssa structured the information and wrote the manuscript with the contributions of Paula, Ariane and Helena. Ariane and Helena managed the whole process. All authors revised the manuscript.

Introduction

MicroRNAs (miRNAs) are non-coding RNAs (ncRNAs), containing 19 to 26 nucleotides in length, which regulates gene expression as a result of their pairing with the messenger RNA (mRNA). The hybrid miRNA-mRNA can lead to three different biological responses: mRNA degradation, translation repression, or translation activation, and therefore they act in various biological and pathological processes [1, 2]. Differently from plants, in which these interactions present perfect or almost perfect Watson-Crick complementarity, animal miRNA-mRNA interactions are mainly partial, and they involve several other factors that are beyond base complementarity [1, 3, 4].

Over the last 16 years, the growing number of experiments to identify miRNA targets has provided knowledge expansion on the subject. Despite previous beliefs, it is a fact that miRNAs can bind to any part of the mRNA, including the 3'UTR (for some years believed to be the only target site) [5], the CDS or the 5'UTR. Additionally, it has been shown that miRNAs can also interact with other ncRNAs and even with the DNA [6–9].

The partial complementarity allows one miRNA to bind to several mRNAs. Furthermore, it allows the same mRNA to be regulated by various miRNAs, known as cooperativity [10]. After the discovery of the functions of miRNAs, it became essential to identify its targets in order to study them, and their role in living organisms. Taking this into account, the studies about miRNAs, when not considering them as biomarkers, have been focused mainly on the identification and role of their targets, whether it is through experiments, database retrieving or computational/mathematical prediction.

MiRNA target prediction is important to discover new possible interactions, different from those already annotated in validated databases, or to preselect potential targets to perform wet experiments to validate their interaction with specific miRNAs of interest. Although the experimental verification is the most accurate way to find the targets, it is expensive and laborious. Therefore, computational target prediction is usually performed before any experiment. Additionally, in some of the miRNA studies, only database retrieval or computational target prediction is performed. The former is safer when an experimentally validated database is used, but limited to the experiments conducted so far, and the latter still has significant accuracy issues to be solved.

Because of the experiment's performance for miRNA synthesis and processing, and for miRNA-mRNA target identification, the crucial mechanisms that lead to the interaction and the miRNA effect on its target have been discovered. The miRNA only binds to its target in what is called miRISC complex, a complex containing the mature miRNA and proteins such as Argonaute proteins (AGOs). After the binding, a protein present in the complex can cleave the mRNA leading to degradation, or it can prevent the ribosome from binding, inhibiting the translation [11]. Furthermore, new studies have enabled identifying the cooperativity and competitiveness of miRNAs with other miRNAs [12–14].

The target prediction is based primarily on the base pairing between the miRNA and the mRNA, which can be canonical (involving pairing in a region called “seed” of the miRNA at its 5' end containing 8 nucleotides), or non-canonical (when any part of the miRNA binds to the mRNA regardless of seed pairing) [15]. However, as already stated that this complementarity in animals is mainly partial [10], in order to perform an accurate target prediction, it is necessary to consider all the other factors that can interfere, or promote the miRNA binding. These factors are incorporated in many prediction tools as features, and among them, the thermodynamics of the interaction, and the presence of proteins essential for the successful pairing (such as the Argonaute proteins -

AGOs) are frequently considered. The latter is performed through the inclusion of CLIP (Cross-linking immunoprecipitation) and CLASH (crosslinking, ligation and sequencing of hybrids) datasets or experimental results [16].

Over 70 different miRNA target-prediction tools have thus far been created (starting in 2003), and this number is still rising. Consequently, it might be difficult to choose the most appropriate tool for specific study purposes, or science questions. Considering this, some literary reviews have been created with the goal to describe and compare these tools and methods, as well as its main features. Riffo-Campos et al. [17], Fan and Kurgan [18], Seitz [19], and Oulas et al [20] bring, for example, a general view on these target prediction tools and methods. These four articles are intended to help the reader find the best tool or method for their case study, either through the use of tools, with empirical comparison, or through the descriptive and critical comparison of the tools.

As the number of tools and target prediction methods is substantial, some of the reviews written so far focus on more specific themes, such as: methods, problems and limitations of these tools [21, 22]; the most used features [23]; and the presence of non-canonical interactions [24]. Nonetheless, none of those literature reviews reported having followed a systematic search strategy, or provided the search protocol, such as keywords or search strings, and which databases were used for the article search. Moreover, there are no quantitative analyses available on these reviews, most of them focus only on the most used tools, excluding more than half of the existing ones, and they do not consider the availability of the tools.

A systematic review represents a solution to the limitations cited above. In a systematic review, together with a critical view, features gathering and analysis of features, an extensive and protocolled search is performed to ensure the coverage of the largest possible number of studies on a given theme, which here is available tools and methods for miRNA target prediction in animals. Therefore, a systematic review is reproducible and auditable [25]. This paper presents a systematic mapping of tools and methods with the goal of filling this gap in the literature, bringing the currently publicly available miRNA prediction tools, as well as quantitative analyses that show the evolution of these tools over time, and the most used features and techniques. This review aims to summarize and aggregate the new and unique tools created for miRNA target prediction, not including databases or online interfaces that simply put together different existing tools.

Methods

As usual, this systematic review was conducted in four steps: 1) planning of the search protocol and strategy, 2) search execution and filtering, 3) article selection using the inclusion and exclusion criteria defined in the protocol, and 4) information extraction from the selected articles and discussion.

The protocol creation was based on the following question: “What are the publicly available tools or methods for new miRNA target prediction in animals?”. Hence, the keywords used in the search in order to cover as many tools as possible in the databases that answered the question were: “microRNA* or miRNA*” (in the title) AND “target* or binding” AND “predict* or identification or detecti* or recognition” AND “tool or approach or method or algorithm or program or model” (in the Title and in the Abstract).

After the keywords selection, two free search engines that allow the download of the search were selected, accessing 6 different health science databases. The first one was the PubMed (accessing MEDLINE) and the second, the Virtual Health Library (VHL) (accessing MEDLINE - again because the search mechanism is slightly different even with the same keywords -, LILACS, IBECs, Sec. Est. Saúde SP and bioRxiv). The

keywords here described were adapted into strings for each search tool (available in the supplementary material). The search and information extraction were performed from 2018 to November 2020.

The articles found in these two databases were downloaded, and then the exclusion criteria were applied followed by the inclusion criteria (table 1).

Table 1 Exclusion and Inclusion criteria for the selection of articles.

Type of Criteria	Criteria
Exclusion Criteria	<ul style="list-style-type: none"> 1- Duplicate articles in different searches; 2- Articles about one specific miRNA; 3- Articles in a language other than English; 4- Any other search result other than articles and manuscripts; 5- Studies that performed target predictions only for plant miRNAs; 6- Review Articles; 7- Studies about tools that predict interactions other than miRNA-mRNA (such as miRNA-disease, miRNA-protein or miRNA-ncRNA); 8- Tools that do not provide the documentation or the source code, or those whose tool is no longer available; 9- Databases or articles that described a prediction tool but only the predictions are available, not the tool; 10- Tools that perform target identification through experiments only.
Inclusion Criteria	<ul style="list-style-type: none"> 1- Articles that bring a tool or method for miRNA-target prediction in animals; 2- Articles in English that have already been published and are available online; 3- Articles focused on describing and presenting a new tool that performs miRNA-target prediction.

The inclusion and exclusion criteria were first applied on the article titles, and after on the abstracts of the preselected articles. The following main information was extracted from the articles after the full reading:

- Features used on the prediction tools (such as alignment, seed requirement, information on binding location, AU content, GU pairs allowed, binding energy, evolutionary conservation, site accessibility, expression data, use of protein data (CLIP and CLASH), and others);
- Existence of an interface for download, web-tool and/or source code availability, and when source code, which programming language was used;
- Which method (Mathematical/Statistical or Machine Learning) was used and its accuracy when available;
- Whether it is a Specie-Specific or disease-specific tool or if it can be used for any organism.

When looking for the tool availability, it is important to emphasize that some articles that had a broken or not working link were submitted to a google search using the name of the tool (when available) followed by “miRNA target prediction” to ensure the tool is not available in a different link. Those which were still available but changed the web address, were still included in the presented results. Furthermore, because of problems in some email addresses and lack of answers from some authors, tools available only upon request were not included in our results.

Part of the quantitative analysis was performed from the information extracted right after the selection of the included articles, and before reading them in full to collect the characteristics. Additionally, the selected articles were restricted only to articles that described tools that search for the target mRNA, but some tools that search for miRNA-ncRNA interactions are brought to the discussion.

Results

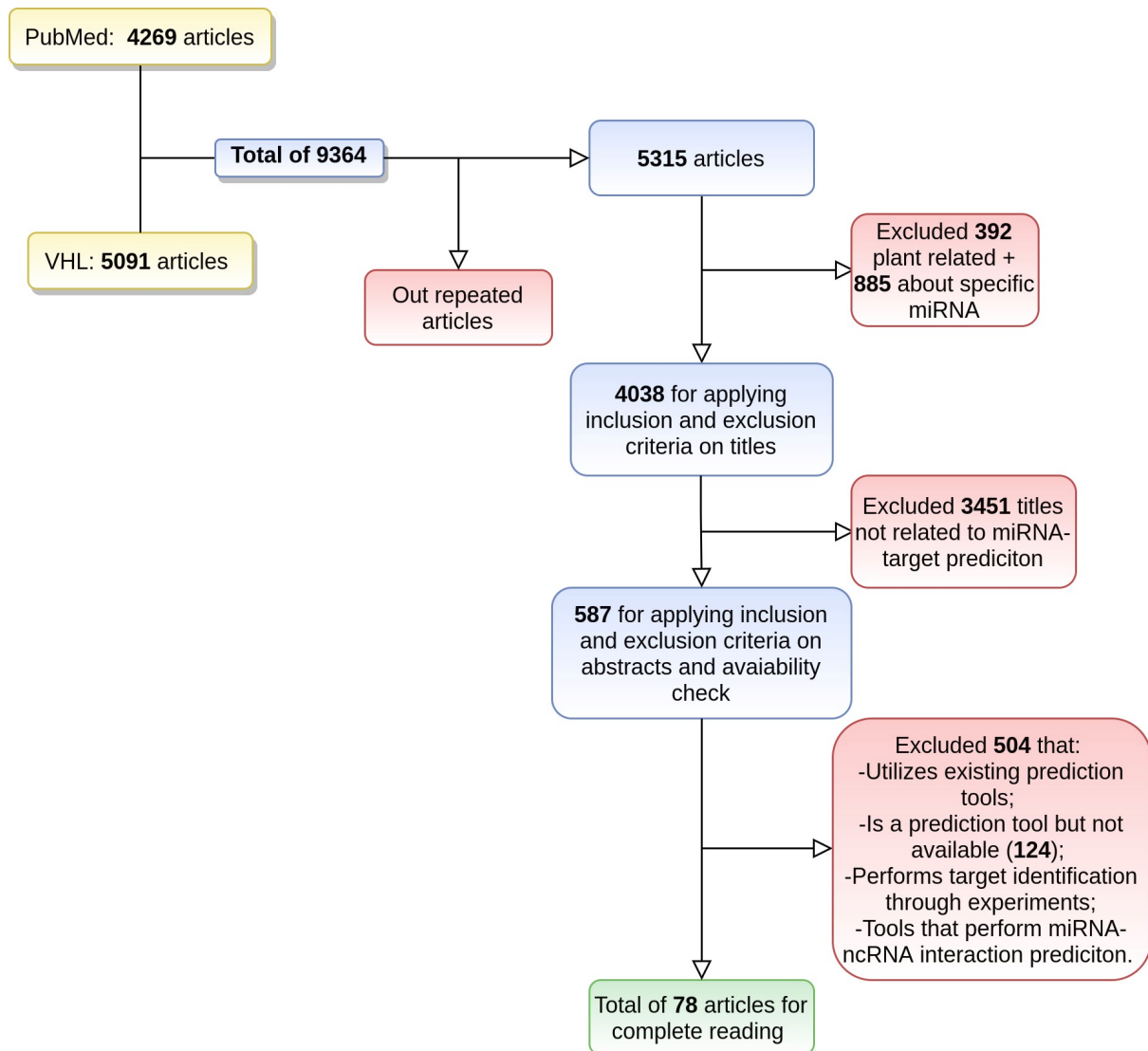


Fig. 1 Article selection fluxogram. For the colors presented: yellow in the beginning of the process represents the searched results, blue in the middle indicates the process, red preceded by outward arrows are the excluded articles, and green in the last step is the final number of articles included, which was 78. All numbers are in bold for emphasis.

The 78 selected articles (Fig.1) for the full reading encompassed a total of 50 different miRNA-target prediction tools (the complete list is in the supplementary material) to be quantitatively and qualitatively analyzed and grouped together through similarities.

Quantitative analysis

The number of articles published on the subject per year (Fig.2) has been growing since 2003, along with the amount of created tools that are maintained, since the first one (from miRanda tool [26]). There are 50 currently available and unique tools on miRNA gene-target prediction for animals, and some of them were improved over

time and the number of articles published regarding the same tool (Fig.3) ranged from 1 to 5 articles per tool in our search.

Articles Published per Year

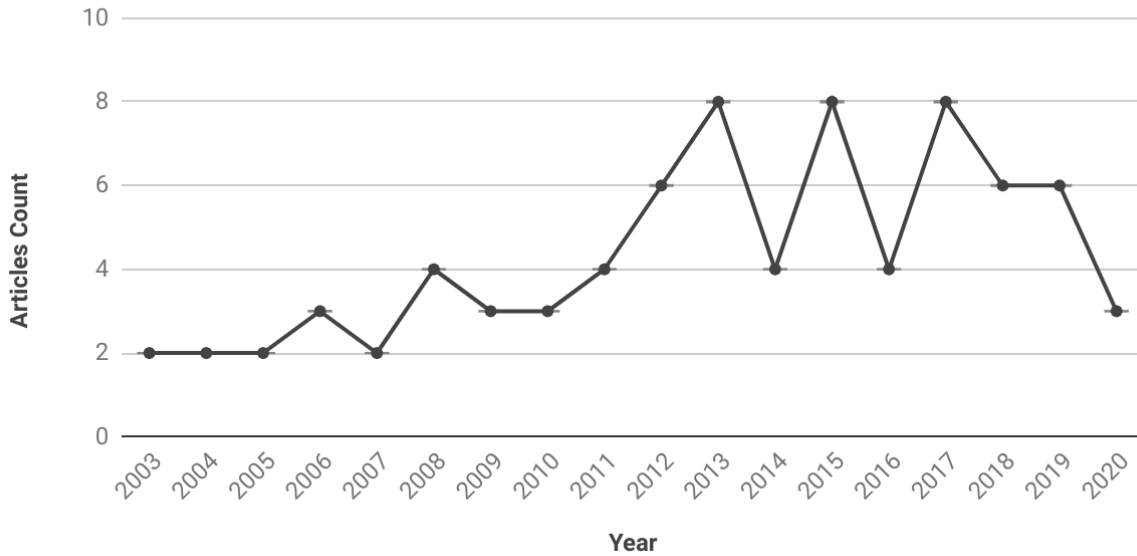


Fig. 2 Published articles per year on the currently available miRNA-target prediction tools. Since the publication of the first article about miRNA prediction tools (2003) which is still freely accessible, a major increase of publication on the subject occurred around 10 years later, in 2012/2013.

More specifically, 30 of the 78 (~38%) published articles were actually an update of an existing tool, adding some features to increase accuracy, or to create another more easily accessible version of the tool, such as a web version. Accordingly, there are a few tools that can be used or accessed in more than one way, such as source code and web interface, because the second articles are focused on making the tools more accessible (see table 2 for complete information).

Therefore, when looking for the availability, the tools presented three options: online, source code and stand-alone for download. Twelve of the 50 tools had two accessibility options. Additionally, 40% of them are available as a web server, 24% available for download, and 54% have the source code available. Also, because some of them changed the original link for accession, we collected all the actual working links (table 2) as explained in the methods.

Number of Articles per Tool

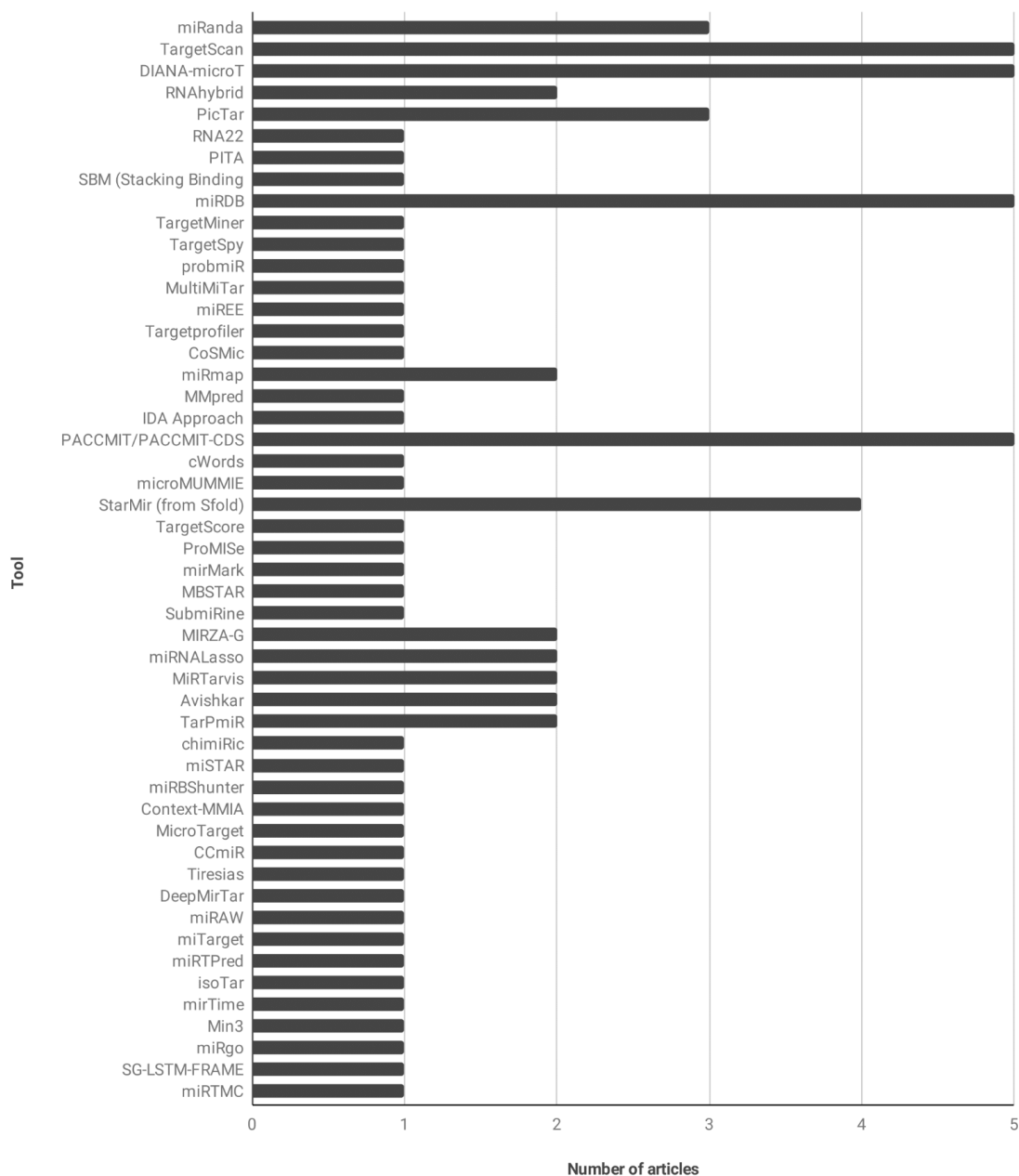


Fig. 3 Number of articles about each tool sorted from the oldest (up) to the most recent (down). Of the 50 tools included in the results, only 14 presented more than one article published with improvements and additional characteristics compared to the first publication.

Subsequently, other relevant information was selected and extracted from the articles during and after the complete reading. For instance, the methods used for the prediction could be basically divided in two groups: machine learning and statistical method, as 13 of the 50 tools used a statistical method(s) for the prediction, and

26 used machine learning and two a combination of both (isoTar [27] and MultiMiTar [28]). The remaining 11 tools used a different mathematical algorithm (see table S1 in the supplementary material).

Table 2 Availability of the miRNA-target prediction tools.

Tool	Online	Download (interface)	Source code	Accessible at:
MiRanda [26, 43, 44]	X		X	http://www.microRNA.org
TargetScan [61–65]	X		X	http://www.targetscan.org/
DIANA-microT [80–84]	X			http://www.microna.gr/webServer
RNAhybrid [94, 95]	X		X	http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid
PicTar [98–100]	X			https://pictar.mdc-berlin.de/
RNA22 [101]	X			https://cm.jefferson.edu/rna22/
PITA [102]	X	X		https://genie.weizmann.ac.il/pubs/mir07/
SBM* [103]			X	http://www2.cmp.uea.ac.uk/~jtk/stackbm/
MiRDB [29–33]	X			http://mirdb.org/
TargetMiner [34]	X		X	https://www.isical.ac.in/~bioinfo_miu/targetminer20.htm
TargetSpy [35]	X	X		http://webclu.bio.wzw.tum.de/targetspy
ProbmiR [36]		X		http://www.baskent.edu.tr/~hogul/mirna/

MultiMiTar [28]	X	X	https://www.isical.ac.in/~bioinfo_miu/multimitar.htm
MiREE [37]	X		https://eda.polito.it/miREE/
Targetprofiler [38]	X		http://mirna.imbb.forth.gr/Targetprofiler.html
CoSMic [39]		X	http://www.weizmann.ac.il/complex/compphys/software/cosmic/
MiRmap [40, 41]	X	X	https://mirmap.ezlab.org/
Mmpred [42]		X	https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-13-620#MOESM11
IDA approach [45]		X	https://academic.oup.com/bioinformatics/article/29/6/765/184183#supplementary-data
PACCMIT/CD [46–49]	X		https://pacmit.epfl.ch/
CWords [50]		X	https://github.com/simras/cWords and https://servers.binf.ku.dk/cwords/
MicroMUMMIE [51]		X	https://ohlerlab.mdc-berlin.de/files/duke/MUMMIE/index.html
StarMir [52–55]	X	X	https://sfold.wadsworth.org/cgi-bin/index.pl
ProMISe [56]		X	https://bioc.ism.ac.jp/packages/3.11/bioc/html/Roleswitch.html
TargetScore [57]		X	http://www.bioconductor.org/packages/devel/bioc/html/TargetScore.html
MirMark [58]		X	https://github.com/lanagarmire/MirMark

MBSTAR [59]	X	X	https://www.isical.ac.in/~bioinfo_miu/MBStar30.htm
SubmiRine [60]			X https://research.nhgri.nih.gov/software/SubmiRine/
MIRZA-G [66, 67]			X https://github.com/zavolanlab/MIRZAG
MiRNALasso [68]			X https://nba.uth.tmc.edu/homepage/liu/miRNALasso/
MiRTarvis [69, 70]	X	X	http://hcil.snu.ac.kr/~rati/miRTarVis/index.html and http://hcil.snu.ac.kr/research/mirtarvisplus
Avishkar [71, 72]			X https://bitbucket.org/cellsandmachines/avishkar
TarPmiR [73, 74]		X	http://hulab.ucf.edu/research/projects/miRNA/TarPmiR/
ChimiRic [75]			X https://bitbucket.org/leslielab/chimirc/src/master/
MiSTAR [76]			X http://mi-star.org/
Context-MMIA [77]	X		http://epigenomics.snu.ac.kr/contextMMIA/
MiRBShunter [78]			X https://github.com/TrabucchiLab/miRBShunter
MicroTarget [79]			X https://bioinformatics.cs.vt.edu/~htorkey/microTarget
CCmiR [85]		X	http://hulab.ucf.edu/research/projects/miRNA/CCmiR
Tiresias [86]			X https://bitbucket.org/cellsandmachines/

DeepMirTar [87]		X	https://github.com/Bjoux2/DeepMirTar_SdA
MiRAW [88]		X	https://bitbucket.org/bipous/workspace/projects/MIRAW
MiTarget [89]		X	http://rna-informatics.uga.edu/12_software.php
MiRTPred [90]	X		http://bicesources.jcbose.ac.in/zhumur/mirtpred
IsoTar [27]	X		https://ncrnaome.osumc.edu/isotar/
MirTime [91]		X	https://github.com/mirTime/mirtime
Min3 [92]			https://sourceforge.net/projects/mirt3
MiRgo [93]	X		http://predictor.nchu.edu.tw/miRgo
SG-LSTM-FRAME [96]		X	https://github.com/Xshelton/SG_LSTM
MiRTMC [97]			https://github.com/hjiangcsu/miRTMC

*SBM = Stacking Binding Matrix.

The number of features used by the tools varied from one (only sequence complementarity information - Stacking Binding Matrix (SBM)) to more than 700 (mirMark and DeepMirTar), but most of them showed a limited number of features. Among all the features that miRNA-target prediction tools can include, ten of them were used more frequently and can be seen in Fig.4.

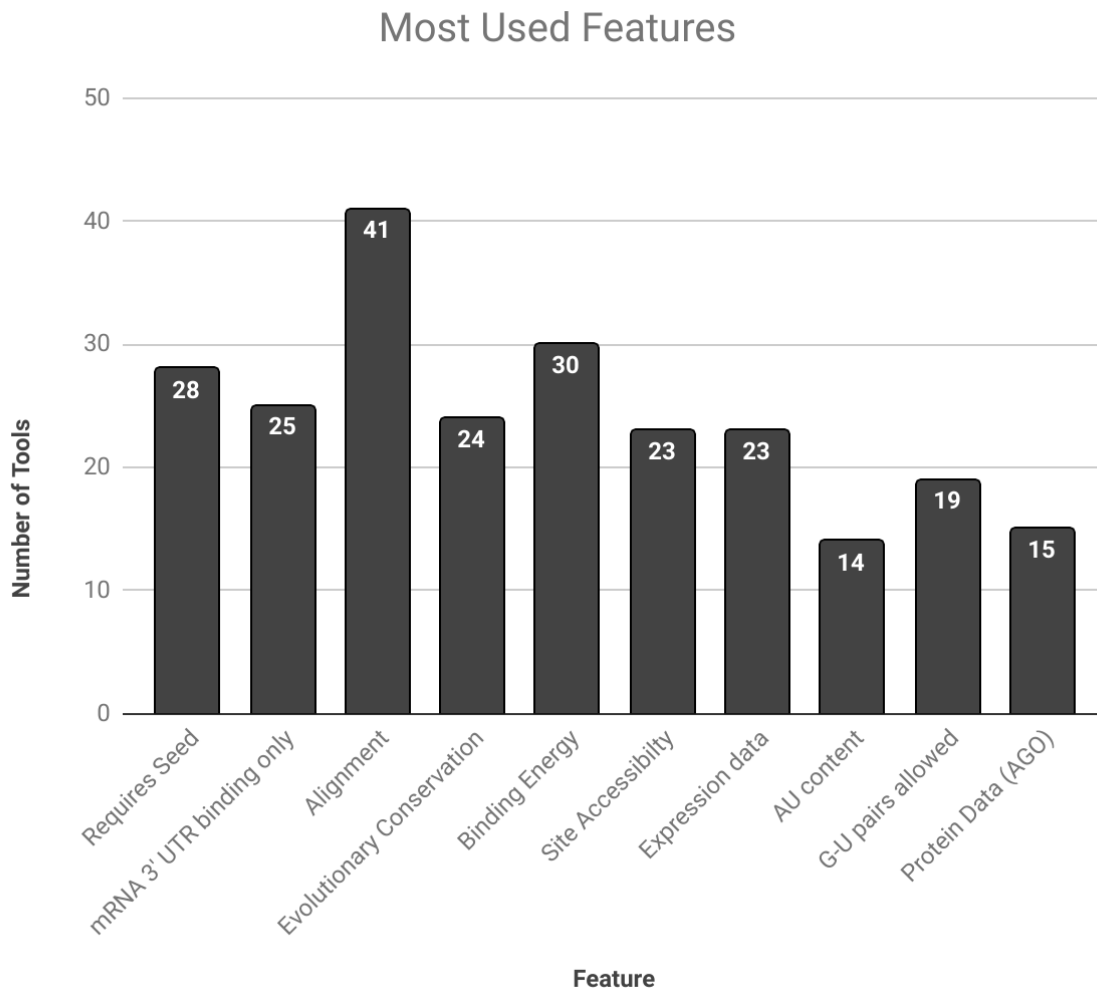


Fig. 4 The most used features in animal target prediction tools. Note that 41 of the 50 currently available miRNA target prediction tools (82%) use alignment as a feature, and more than half (56%) consider only seed binding as true binding. Also, half of them consider the 3'UTR as the only binding site and more than half consider thermodynamics features such as binding energy (60%) or site accessibility (46%). Also, a large amount considers expression data (46%) and evolutionary conservation (48%).

Most of the animal miRNA target prediction tools use cell specific miRNA and mRNA expression for the training, therefore these tools are designed for different organisms, yet all of them include human data (see table S1). Additionally, the mathematical models used in the prediction are basically two types (a statistical model or machine learning technique), and this information and the accuracy of methods (when informed in the original article) are available in the supplementary material (table S1).

Qualitative analysis

In this section the tools included in this review that are currently freely available were categorized and summarized in six separate topics.

1- Prediction tools based mainly on miRNA-mRNA hybridization or alignment

The Watson-crick base complementarity is crucial to any target prediction, and the primary belief was that miRNA binds to mRNA due to complementarity only in animals, as observed in less complex organisms. Despite this, it is not common to find an animal miRNA-target prediction tool based only on sequence alignment. Most of the tools included in this review use alignment as a feature (Fig.4). Some of them combine it with expression data (CoSMic, TargetScore, miRTarvis, Context-MMIA, Tiresias, ProMISe, cWords), others with the thermodynamics of interaction (binding energy and site accessibility) (probmiR, RNA22, TargetSpy, SubmiRine, miTarget), and a few combine these three features (multiMiTar and PITA). However, only two tools are purely based on alignment (SBM and miRanda). Additionally, some of the primarily alignment-based tools are based on enrichment or depletion of specific nucleotide sequences (called words), found by statistics (cWords and Sylamer [104] but this last one is no longer available so it is not included in these results). Many other alignment-based tools (more than half found on our search - see table S1 on supplementary material) also include evolutionary conservation and/or AGO data.

An important feature considered in many alignment-based tools is the inclusion of seed match, which can be a requirement for considering an interaction (most of them) or an optional feature (TargetScan, RNAhybrid).

Furthermore, while most of the tools are 3'UTR restricted when looking for the target sites, several tools can detect alignment in different parts from the mRNA such as CDS or 5'UTR (half found in our search), with one of them divided in two different algorithms in which one is specifically for 3'UTR and the other for the CDS (PACCMIT/PACCMIT-CDS).

2- Tools that consider expression profile data

Another important way to achieve a more accurate miRNA target prediction is by using the miRNA and mRNA expression data as a feature, since it allows one to take into consideration the specific tissue/cell expression. Although most tools assume that miRNAs only downregulate their targets, this feature increases the performance of predictions. Almost half of the tools included in these results (23 of them) use expression data as a feature. Among them, only Tiresias, IDA approach and CoSMic also consider positive correlation between miRNAs and mRNAs.

Most of the methods that consider this feature use both mRNA and miRNA expression profiles. Two tools MMpred and IDA Approach were created based solely on expression data. The former is based on anti-correlation for miRNA and target genes and correlation for miRNAs and host genes, and it uses mRNA expression to predict miRNA expression. The latter is based on the causal relationship between miRNA and mRNA expression data. The expression data can also be the input for the prediction, which is the case of miRTarVis, cWords, Context-MMIA and also MMpred. Additionally, MMpred and cWords (that correlates the enrichment of target-based words in mRNA sequences with changes in mRNA expression) only use mRNA expression data. Another method, TargetScore, uses both expression profiles, but it is specifically designed for miRNA overexpression experiments.

3- Restricted or specific tools (only for one type of animal or for one type of cell or diseases)

MiRNA-target prediction tools can be restricted to species, cells/tissues or even disease-related. It happens when training data is required in the algorithm, and these training data were from specific species, cells or diseases. Most of the tools created so far rely on species-specific training data (data-driven). Only two tools (RNAhybrid and miRanda) are exclusively rule-based, using features such as thermodynamics rules, and for this they can be used for any situation.

Most of the species-specific tools for animals are trained with only human data, and some of them (17 from the 50) include other species such as mouse, worm, fly, fish, rat, chicken, rhesus, frog, dog, cow, chimpanzee, nematodes and other mammalian and vertebrates. Additionally, only approximately 16% of the tools comprise a wide range of organisms (miRanda, RNAHybrid, PicTar, RNA22, ProbmiR, miRmap and miRTarvis) with two of them for any living organism (miRanda and RNAhybrid), which can increase the false positive rate (See Table S1 on organism and accuracy column), and all of the tools included in this study can perform target prediction for humans.

4- Tools that consider miRNA cooperativity or synergy and competitiveness

Although it is not essential to identify single miRNA-mRNA interactions, cooperativity or synergy and competitiveness among miRNAs can help bring us closer to true interactions, and better understand miRNA regulation, since some miRNAs act together in several mRNA targets. Thereby even if the interaction between one miRNA and one mRNA is confirmed, that miRNA alone might not be able to induce repression of its target. Hence, predicting an isolated site is more likely to be a false positive than predicting a cluster of nearby target sites.

In addition, some miRNAs compete for the same target site. Consequently, the location information of the predicted sites, together with the level of expression of the miRNAs, might be of great help to figure out which miRNAs are possibly targeting a given mRNA. Just one tool considers both cooperativity and competitiveness as a feature for their target search, the CCmiR. Furthermore, another tool, ProMISe, considers the competitiveness not only of miRNAs for a mRNA but also contrariwise, in which mRNAs compete for the same miRNAs.

5- Prediction tools that use protein (AGO) data (such as CLIP and CLASH) for the positive dataset

The inclusion of CLIP-seq and CLASH data as a feature is crucial for delivering predicted interactions closer to reality, and therefore, increasing the tool accuracy, as these experiments take into account the presence of proteins that participate in the miRISC complex (mainly AGO proteins). Of the 50 tools, 15 included AGO data as a feature, through PAR-CLIP, HITS-CLIP, iPAR-CLIP or CLIPL experiments (see table S1 in supplementary material).

Most of the tools that included experimental AGO data extracted this information from databases. Some just considered this protein data, and others included other experimentally validated data, as well as the positive

training dataset. For example, on the one hand, Chimiric, is a method that is only trained on chimeric reads from CLASH and AGO-CLIP, and it has the goal to learn AGO sequence preferences. On the other hand, miRAW that uses PAR-CLIP and CLASH, also uses data from DIANA-Tarbase [94] and miRTarBase [95] as training data.

6- Methods and algorithms used for the creation of the prediction tool and their accuracy on the prediction

There are two main types of mathematical methods used for predicting the interaction, statistical methods (such as correlation, regression or causal inference) and machine learning techniques.

Machine learning techniques consist of learning a model from a sample of examples, each one represented by its features (training data), that can be used to predict new instances (of miRNA target sites, in the present context). Therefore, in theory they are able to generalize a concept of what a miRNA target site is. Different learning algorithms induce different types of models. And learning from different training samples means estimating different model parameters. In the context of this review, the most used learning algorithms are Support Vector Machines (SVM), Hidden Markov Models (HMM) and Artificial Neural Networks (ANN). SVMs and ANNs are non-probabilistic models that predict if a sequence is a miRNA target or not, whereas HMMs are probabilistic models that associate a sequence with a probability of being a miRNA target. This probability can be used by the researcher, for instance, to focus on the most probable candidates. However, a fair comparison of these algorithms is only possible when their models are learned from the same training data and applied on the same test data, which is not the case of the studies reported here. In addition, the quality of the model learning depends on the quality of the training data, which can ideally be experimental validated data from databases or from isolated experiments.

The tools with the highest accuracy values are those based on a higher number of features (Table S1). According to the machine learning theory, increasing the number of features improves the prediction accuracy to a point where accuracy begins to degrade if the number of training examples does not increase together, which is known as dimensionality curse. Therefore, it is possible that, along with increasing data availability to be used as training dataset, one way to decrease the false negatives of the actual machine learning target prediction tools is to include a greater number of features that are clearly important for the interaction (TarPmiR, mirMark, DeepMirTar). Another way that was able to improve the accuracy in some cases was the use of two mathematical models combined instead of just one (MultiMiTar, mirEE, mirMark, chimiRic, miSTAR - see table S1 for accuracy details). It is also important to test the tools properly and use a validated interaction dataset for the training data, instead of other predicted targets.

The accuracy, precision and recall of the actual tools are still an issue to be solved. Most of the tools use other tools to compare accuracy instead of experimental data, due to low real accuracy of target predictions. Until the present moment, the included tools that have achieved the highest accuracy are the machine learning based ones that use deep learning (SG-LSTM-FRAME and DeepMiTar - over 700 features) and more than one classifier (mirMark and miSTAR with around 700 and 53 features respectively).

One important issue when addressing the performance of the mathematical methods is that they are usually measured by different methods, parameters and datasets. While some tools use ROC curves and recall measurements, others rely on its efficacy in comparing other existing similar tools by comparing both tools with the same test dataset. Therefore, although a few tools show high accuracy, it is difficult to compare accuracy among different tools due to the different ways used to measure performance.

Discussion

The importance encompassing the features: alignment, seed complementary, expression data, and other features in predicting targets

Even though the alignment is partial in animals, experiments showed that interactions comprise an alignment of at least 6-8 nucleotides between the mRNA and the miRNA [105]. Many studies have shown evidence that features other than perfect base complementarity are crucial, and interactions can occur even without seed match. Moreover, the majority of available tools still include seed binding as a determinant factor for the interaction. While it can lower the false positive rate, it can also mask around 15-80% of the interactions that do not include canonical binding as stated in the introduction [24].

The expression data presents itself as a critical feature on the target prediction as it approximates predictions to the real occurring interactions. It is often assumed that miRNAs downregulate mRNAs, considering a negative correlation between them. However, miRNAs can be found on the introns of its target host gene, and an increase of an mRNA can follow up an increase of its miRNA regulator, conveying the importance of also considering positive correlations in the methods [106–108].

Concerning the other features addressed in this study that are frequently used on these prediction tools, they have been shown to be non-essential by experimental data. Evolutionary conservation, for example, has been true for only 70% of validated interactions [109]. Therefore, this feature might be better used as optional or to narrow the number of predicted targets when this is the study goal.

How to choose an appropriate tool and deal with the high false positive and false negative rates?

Taking into account that all of the tools included in the presented results are currently available, the number of tools already created for miRNA-target prediction probably doubles. Many tools found in the search created before 2017 have not been maintained, and they do not present an available working link. This high number of created new tools reflects the importance to find miRNA targets when studying the miRNA. However, the existing available miRNA-target prediction tools do not present good accuracy.

Also, only original miRNA target prediction tools were included in the results, as “tools that use other prediction tools and perform improvements” is one of our exclusion criteria. However, as observed on the miRNA target prediction tools created in the past three years, using a single miRNA target prediction tool might not be the best solution. Instead, using a compilation of some tools with different approaches and features, and that include the characteristics that are crucial to binding, can improve the prediction as seen in recent proposed tools (table 3). This shows that even the creation of more new miRNA-prediction tools might not be the best option to approach the low accuracy.

Hence, what would be the best miRNA target prediction tool choice nowadays? First, it is important to know which organisms the researcher will work with, and look for tools that have used the same organism (tissue or cell when available) of interest in developing the model. Secondly, it is important to look up for the features that are crucial (to the extent of our actual knowledge) for the miRNA-mRNA binding, such as base pair binding in at least 6 nt of the complex [104], miRISC components presence (through CLIP-seq data for example), expression data (mRNA and miRNA) in different cell types (considering negative and positive correlations or causal inferences) and thermodynamics (free energy and binding energy). All the other features, such as seed complementarity and 3'UTR exclusive binding, are proven to be important, but not essential. Another important factor to look at in the search for a proper tool, is not only which features they use, but how many and the method used in the predictions (see tableS1 for more information on accuracy and features). For instance, deep learning-based tools have shown better accuracy.

Additionally, some available tools are not original target prediction tools but present themselves as a step forward for target identification with the goal to improve the prediction of one, or some already existing tools as seen in table 3. For this, they can aggregate predictions from already existing tools, adding expression profile (Cupid [110], CIDER [111], miRTissue [112]), experimentally validated interactions (miRTissue), regulation knowledge (CIDER), gene enrichment (mirTarPri [113], OMIT [114]). Sometimes, these methods can also be a re-design or addition of new methods and algorithms upon an already widely used tool, or on its prediction results, such as [115] (uses a decision tree for meta-prediction), MirAncesTar [116] and GAMUT [117] (re-design of miRanda).

Table 3 Some of the tools that used a compilation of existing tools or added new features to those in order to improve performance

Tool	Year	Availability	Brief description	Performance
MirTarPri [113]	2013	Online	Performs a target prioritization after predicting them with TargetScan, PicTar, miRanda, PITA, DIANA-microT and RNAHybrid.	AUC up to 0.84.
ComiR [119]	2013	Online	Uses miRNA expression to improve and combine targets predicted with miRanda, PITA and TargetScan.	AUC of 0.89 which was 22-35% better the target tools compared .
GAMUT [117]	2014	Source code in C/C++	Also called CUDA-miRanda it is an improvement of miRanda by using NVIDIA's Compute Unified Device Architecture (CUDA) to lower the prediction time.	Sames targets of miRanda but 166 times better performance for execution time.
Cupid [110]	2015	Source code in MATLAB	Integrate information about sites predicted by TargetScan, miRanda and PITA using site score, site accessibility, cross-species conservation and co-expression of miRNAs and targets.	Comparing to 11 different tools, Improves the harmonic mean of precision and recall (F-measure) in 3% to ~16%.
CIDER [111]	2016	Source code in R	Integrates expression profile, predicted targets from TargetScan, experimentally validated targets and regulation knowledge.	F-Score grows with the amount of transcriptional or post-transcriptional regulatory knowledge and further with the combination of the two types of regulatory knowledge.

MirAncesTar [116]	2016	Source code in Java	Uses ancestral genome reconstruction to boost the accuracy of 5 existing tools: miRanda, RNAhybrid, MirMark, TargetScan, DIANA-microT v4.	Improves the accuracy of existing tools by 26% to 157%.
[115]	2017	Not available	Results of miRanda, miRDB and PITA were integrated into a decision-tree to make meta-prediction.	Accuracy significantly improved by at least 30% compared to the individual predictors.
[120]	2017	Not available	Uses TargetScan, miRanda, Pita, and RNA22 for target prediction on the same dataset and demonstrates that union of tools specially TargetScan+miRanda and TargetScan+miRanda+RNA22 enhanced the quality of the prediction compared to them alone or the intersection.	The union of the four showed sensitivity above 0.8 and the Matthews correlation coefficient (MCC) was higher than 0.6 for most unions.
Filtar [118]	2020	Download for LINUX	Incorporates RNA-Seq data to pre-existing miRNA target prediction (using TargetScan) to make miRNA target prediction specific to a given cell type or tissue of interest.	Shows that Implementing an expression threshold on predicted miRNA targets improves miRNA target prediction accuracy.

The effect of the miRNA on its target and regulation of other less frequent types of targets (such as DNA and other RNAs)

When considering miRNA targets, it is important to remember that the miRNAs not only bind to mRNAs, and in many cases, the expression of miRNAs might not indicate its direct activity on gene repression or degradation. One good example of this is the existence of RNA sponges, which are ncRNAs that contain multiple miRNA binding sites [121]. Another example is the evidence of miRNAs binding to DNA, and forming a triplex structure [122].

Accordingly, throughout our selection of articles, a range of tools created for the identification of miRNA interactors other than mRNAs appeared. Among them, many focused on miRNA-disease associations identification (*NetCBI* [123], *NCMCMDA* [124], *NEMII* [125], *DCSMDA* [126], [127], [128], [129]) and some considers other types of miRNA binding possibilities such as miRNA sponges formations (*spongeScan* [130], *miR spongeR* [131]), and the interaction with transcription factors (*MIRTFnet* [132], *Amadeus* [133]), proteins (*miRNAmotif* [134]) and other non-coding RNAs such as lncRNA (*EPLMI* [135], *DIANA-LncBase V2* [136], [129]).

Conclusion

In this study we systematically addressed and evaluated the currently available miRNA-target prediction tools and methods which comprised 50 tools described in 78 different articles. With the presented results, it is possible to conclude that the miRNA target prediction by only one tool or method is still a challenge, leading to results with low sensibility and specificity compared to real interactions.

Besides, there are many algorithms that are not able to identify target genes that bind outside the miRNA seed or mRNA 3'UTR region, limiting their predictions as we know that in various miRNA-mRNA interactions found, the binding can happen on the 5'UTR or CDS region without the need for seed-match. It might be necessary to include this information depending on the study goal, even though it can increase the prediction's false positive rate. For this, the inclusion of other characteristics related to real binding interactions such as the presence of the main components of the RISC complex, such as AGOs with CLIP-seq and CLASH data, also becomes necessary. Other options include the addition of biological information through enrichment and the use of tissue-specific training data as miRNAs and mRNAs are differentially expressed in different tissues.

Additionally, when considering performance, some tools (that were not included in the results because they did not match the criteria but are discussed afterwards) have been created based on the compilation or improvement of other existing prediction tools, through the addition of new methods and features (such as deep learning), or experimental data. As seen in the accuracy values of some of these tools in the discussion, this seems to be a better option to improve miRNA target prediction nowadays. This removes the need to create even more prediction algorithms, as there are already a large number of them with still high rates of false positive and negative interactions. In the near future, an important issue would be to include single-cell expression databases in the miRNA-target prediction tools and methods.

References

1. Wu L, Belasco JG (2008) Let Me Count the Ways: Mechanisms of Gene Regulation by miRNAs and siRNAs. *Mol Cell* 29:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.12.010>
2. Iwasaki S, Tomari Y (2009) Argonaute-mediated translational repression (and activation). *Fly (Austin)* 3:205–208. <https://doi.org/10.4161/fly.3.3.9025>
3. Zhang B, Wang Q, Pan X (2007) MicroRNAs and their regulatory roles in animals and plants. *J Cell Physiol* 210:279–289. <https://doi.org/10.1002/jcp.20869>
4. Pereira da Silva N, Regine de França N, Mesquita Júnior D, et al (2010) RNA interference: A new alternative for rheumatic diseases therapy. *Bras J Rheumatol* 50:695–709
5. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP (2005) Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 120:15–20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.035>
6. Ørom UA, Cilius Nielsen F, Lund AH Article MicroRNA-10a Binds the 5' UTR of Ribosomal Protein mRNAs and Enhances Their Translation. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.05.001>
7. Chi SW, Zang JB, Mele A, Darnell RB (2009) Argonaute HITS-CLIP decodes microRNA-mRNA interaction maps. *Nature* 460:479–486. <https://doi.org/10.1038/NATURE08170>
8. Hafner M, Landthaler M, Burger L, et al Transcriptome-wide identification of RNA-binding protein and microRNA target sites by PAR-CLIP. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.009>
9. Toscano-Garibay JD, Aquino-Jarquín G (2012) Regulation Exerted by miRNAs in the Promoter and UTR Sequences: MDR1/P-gp Expression as a Particular Case. <https://home.liebertpub.com/dna> 31:1358–1364. <https://doi.org/10.1089/DNA.2012.1703>
10. Gebert LFR, Macrae IJ Regulation of microRNA function in animals. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0045-7>

11. Ge W, Yi M, Pak TR, et al (2018) Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol* | [www.frontiersin.org 1:402](https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402). <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>
12. Na YJ, Kim JH (2013) Understanding cooperativity of microRNAs via microRNA association networks. *BMC Genomics*. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-S5-S17>
13. Hon LS, Zhang Z (2007) The roles of binding site arrangement and combinatorial targeting in microRNA repression of gene expression. *Genome Biol* 8:R166. <https://doi.org/10.1186/GB-2007-8-8-R166>
14. Sætrom P, Heale BSE, Snøve O, et al (2007) Distance constraints between microRNA target sites dictate efficacy and cooperativity. *Nucleic Acids Res* 35:2333. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKM133>
15. Cipolla GA, Fabbri M, Eiring AM (2014) A non-canonical landscape of the microRNA system. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00337>
16. Arias JER, Busskamp V (2019) Challenges in microRNAs' targetome prediction and validation. *Neural Regen Res* 14:1672. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.257514>
17. ÁL R-C, I R, P B-M (2016) Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose? *Int J Mol Sci* 17:. <https://doi.org/10.3390/IJMS17121987>
18. X F, L K (2015) Comprehensive overview and assessment of computational prediction of microRNA targets in animals. *Brief Bioinform* 16:780–794. <https://doi.org/10.1093/BIB/BBU044>
19. H S (2017) Issues in current microRNA target identification methods. *RNA Biol* 14:831–834. <https://doi.org/10.1080/15476286.2017.1320469>
20. A O, N K, A L, et al (2015) Prediction of miRNA targets. *Methods Mol Biol* 1269:207–229. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2291-8_13
21. Mockly S, Seitz H (2019) Inconsistencies and Limitations of Current MicroRNA Target Identification Methods. *Methods Mol Biol* 1970:291–314. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9207-2_16
22. Fridrich A, Hazan Y, Moran Y (2019) Too Many False Targets for MicroRNAs: Challenges and Pitfalls in Prediction of miRNA Targets and Their Gene Ontology in Model and Non-model Organisms. <https://doi.org/10.1002/bies.201800169>
23. Peterson SM, Thompson JA, Ufkin ML, et al (2014) Common features of microRNA target prediction tools. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00023>
24. Seok H, Ham J, Jang E-S, Chi SW (2016) MicroRNA Target Recognition: Insights from Transcriptome-Wide Non-Canonical Interactions. *Mol Cells* 39:375. <https://doi.org/10.14348/MOLCELLS.2016.0013>
25. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al (2009) The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ* 339:. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2700>
26. Enright AJ, John B, Gaul U, et al (2003) MicroRNA targets in *Drosophila*. *Genome Biol* 5:1–14. <https://doi.org/10.1186/gb-2003-5-1-r1>
27. Distefano R, Nigita G, Veneziano D, et al (2019) isoTar: Consensus Target Prediction with Enrichment Analysis for MicroRNAs Harboring Editing Sites and Other Variations. *Methods Mol Biol* 1970:211–235. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9207-2_12
28. Mitra R, Bandyopadhyay S (2011) MultiMiTar: A novel multi objective optimization based miRNA-target prediction method. *PLoS One* 6:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024583>
29. Wang X (2008) miRDB: A microRNA target prediction and functional annotation database with a wiki interface. *Rna* 14:1012–1017. <https://doi.org/10.1261/rna.965408>
30. X W (2010) Computational prediction of microRNA targets. *Methods Mol Biol* 667:283–295. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-811-9_19

31. Wang X (2016) Improving microRNA target prediction by modeling with unambiguously identified microRNA-target pairs from CLIP-ligation studies. *Bioinformatics* 32:1316. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTW002>
32. W L, X W (2019) Prediction of functional microRNA targets by integrative modeling of microRNA binding and target expression data. *Genome Biol* 20:. <https://doi.org/10.1186/S13059-019-1629-Z>
33. Wong N, Wang X (2015) miRDB: An online resource for microRNA target prediction and functional annotations. *Nucleic Acids Res* 43:D146–D152. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1104>
34. Bandyopadhyay S, Mitra R (2009) TargetMiner: MicroRNA target prediction with systematic identification of tissue-specific negative examples. *Bioinformatics* 25:2625–2631. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp503>
35. Sturm M, Hackenberg M, Langenberger D, Frishman D (2010) TargetSpy: A supervised machine learning approach for microRNA target prediction. *BMC Bioinformatics* 11:. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-292>
36. Oğul H, Umu SU, Tuncel YY, Akkaya MS (2011) A probabilistic approach to microRNA-target binding. *Biochem Biophys Res Commun* 413:111–115. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.08.065>
37. Reyes-Herrera PH, Ficarra E, Acquaviva A, Macii E (2011) MiREE: MiRNA recognition elements ensemble. *BMC Bioinformatics* 12:454. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-454>
38. Oulas A, Karathanasis N, Louloui A, et al (2012) A new microRNA target prediction tool identifies a novel interaction of a putative miRNA with CCND2. *RNA Biol* 9:1196–1207. <https://doi.org/10.4161/rna.21725>
39. Bossel Ben-Moshe N, Avraham R, Kedmi M, et al (2012) Context-specific microRNA analysis: Identification of functional microRNAs and their mRNA targets. *Nucleic Acids Res* 40:10614–10627. <https://doi.org/10.1093/nar/gks841>
40. Vejnar CE, Zdobnov EM (2012) MiRmap: Comprehensive prediction of microRNA target repression strength. *Nucleic Acids Res* 40:11673–11683. <https://doi.org/10.1093/nar/gks901>
41. Vejnar CE, Blum M, Zdobnov EM (2013) miRmap web: Comprehensive microRNA target prediction online. *Nucleic Acids Res* 41:165–168. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt430>
42. Stempor PA, Cauchi M, Wilson P (2012) MMpred: Functional miRNA - mRNA interaction analyses by miRNA expression prediction. *BMC Genomics* 13:1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-620>
43. Betel D, Wilson M, Gabow A, et al (2008) The microRNA.org resource: Targets and expression. *Nucleic Acids Res* 36:149–153. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm995>
44. Betel D, Koppal A, Agius P, et al (2010) Comprehensive modeling of microRNA targets predicts functional non-conserved and non-canonical sites. *Genome Biol* 11:R90. <https://doi.org/10.1186/gb-2010-11-8-r90>
45. Le TD, Liu L, Tsykin A, et al (2013) Inferring microRNA-mRNA causal regulatory relationships from expression data. *Bioinformatics* 29:765–771. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt048>
46. Robins H, Li Y, Padgett RW (2005) Incorporating structure to predict microRNA targets. *Proc Natl Acad Sci* 102:4006–4009. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0500775102>
47. Marín RM, Vaniček J (2011) Efficient use of accessibility in microRNA target prediction. *Nucleic Acids Res* 39:19–29. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKQ768>
48. Marín RM, Vaniček J (2012) Optimal use of conservation and accessibility filters in microrna target prediction. *PLoS One* 7:. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032208>
49. Šulc M, Marín RM, Robins HS, Vaniček J (2015) PACCMIT/PACCMIT-CDS: identifying microRNA targets in 3' UTRs and coding sequences. *Nucleic Acids Res* 43:W474. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV457>
50. Rasmussen SH, Jacobsen A, Krogh A (2013) CWords - systematic microRNA regulatory motif discovery from mRNA expression data. *Silence* 4:1. <https://doi.org/10.1186/1758-907X-4-2>

51. Majoros WH, Lekprasert P, Mukherjee N, et al (2013) MicroRNA target site identification by integrating sequence and binding information. *Nat Methods*. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2489>
52. Liu C, Mallick B, Long D, et al (2013) CLIP-based prediction of mammalian microRNA binding sites. *Nucleic Acids Res* 41:. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt435>
53. Rennie W, Liu C, Carmack CS, et al (2014) STarMir: A web server for prediction of microRNA binding sites. *Nucleic Acids Res* 42:114–118. <https://doi.org/10.1093/nar/gku376>
54. Kanoria S, Rennie W, Liu C, et al (2016) STarMir tools for prediction of microRNA binding sites. In: *Methods in Molecular Biology*
55. Rennie W, Kanoria S, Liu C, et al (2019) Sfold Tools for MicroRNA Target Prediction. In: Laganà A (ed) *Methods in Molecular Biology*. Springer New York, New York, NY, pp 31–42
56. Li Y, Liang C, Wong KC, et al (2014) Inferring probabilistic miRNA-mRNA interaction signatures in cancers: a role-switch approach. *Nucleic Acids Res* 42:1–11. <https://doi.org/10.1093/nar/gku182>
57. Li Y, Goldenberg A, Wong KC, Zhang Z (2014) A probabilistic approach to explore human miRNA targetome by integrating miRNA-overexpression data and sequence information. *Bioinformatics* 30:621–628. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt599>
58. Menor M, Ching T, Zhu X, et al (2014) mirMark: a site-level and UTR-level classifier for miRNA target prediction. *Genome Biol* 15:500. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0500-5>
59. Bandyopadhyay S, Ghosh D, Mitra R, Zhao Z (2015) MBSTAR: Multiple instance learning for predicting specific functional binding sites in microRNA targets. *Sci Rep* 5:1–12. <https://doi.org/10.1038/srep08004>
60. Maxwell EK, Campbell JD, Spira A, Baxevasis AD (2015) SubmiRine: Assessing variants in microRNA targets using clinical genomic data sets. *Nucleic Acids Res*. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv256>
61. Lewis BP, Shih I, Jones-Rhoades MW, et al (2003) Prediction of Mammalian MicroRNA Targets. *Cell* 115:787–798. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)01018-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)01018-3)
62. Grimson A, Farh KKH, Johnston WK, et al (2007) MicroRNA Targeting Specificity in Mammals: Determinants beyond Seed Pairing. *Mol Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.06.017>
63. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 19:92. <https://doi.org/10.1101/GR.082701.108>
64. Garcia DM, Baek D, Shin C, et al (2011) Weak seed-pairing stability and high target-site abundance decrease the proficiency of lsy-6 and other microRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 18:1139–1146. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2115>
65. Agarwal V, Bell GW, Nam J-W, Bartel DP (2015) Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *Elife* 4:. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.05005>
66. Khorshid M, Hausser J, Zavolan M, Nimwegen E van (2013) A biophysical miRNA-mRNA interaction model infers canonical and noncanonical targets. *Nat Methods* 2013 103 10:253–255. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2341>
67. Gumienny R, Zavolan M (2015) Accurate transcriptome-wide prediction of microRNA targets and small interfering RNA off-targets with MIRZA-G. *Nucleic Acids Res* 43:1380–1391. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv050>
68. Wang Z, Xu W, Liu Y (2015) Integrating full spectrum of sequence features into predicting functional microRNA-mRNA interactions. *Bioinformatics* 31:3529–3536. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv392>
69. Jung D, Kim B, Freishtat RJ, et al (2015) MiRTarVis: An interactive visual analysis tool for microRNA-mRNA expression profile data. *BMC Proc* 9:. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-9-S6-S2>
70. L'Yi S, Jung D, Oh M, et al (2017) miRTarVis+: Web-based interactive visual analytics tool for microRNA target predictions. *Methods* 124:78–88. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.06.004>

71. Ghoshal A, Shankar R, Bagchi S, et al (2015) MicroRNA target prediction using thermodynamic and sequence curves. *BMC Genomics* 16:1–21. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1933-2>
72. Ghoshal A, Zhang J, Roth MA, et al (2018) A Distributed Classifier for MicroRNA Target Prediction with Validation Through TCGA Expression Data. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinforma* 15:1037–1051. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2018.2828305>
73. Ding J, Li X, Hu H (2016) TarPmiR: A new approach for microRNA target site prediction. *Bioinformatics* 32:2768–2775. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw318>
74. Li X, Hu H (2019) Improving miRNA Target Prediction Using CLASH Data. pp 75–83
75. Lu Y, Leslie CS (2016) Learning to Predict miRNA-mRNA Interactions from AGO CLIP Sequencing and CLASH Data. *PLoS Comput Biol* 12:1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005026>
76. Van Peer G, De Paep A, Stock M, et al (2017) MiSTAR: MiRNA target prediction through modeling quantitative and qualitative miRNA binding site information in a stacked model structure. *Nucleic Acids Res* 45:. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1260>
77. Oh M, Rhee S, Moon JH, et al (2017) Literature-based condition-specific miRNA-mRNA target prediction. *PLoS One* 12:e0174999. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174999>
78. Bottini S, Hamouda-Tekaya N, Tanasa B, et al (2017) From benchmarking HITS-CLIP peak detection programs to a new method for identification of miRNA-binding sites from Ago2-CLIP data. *Nucleic Acids Res* 45:e71. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx007>
79. Torkey H, Heath LS, Elhefnawi M (2017) MicroTarget: MicroRNA target gene prediction approach with application to breast cancer. *J Bioinform Comput Biol* 15:1–17. <https://doi.org/10.1142/S0219720017500135>
80. Kiriakidou M, Nelson PT, Kouranov A, et al (2004) A combined computational-experimental approach predicts human microRNA targets. *Genes Dev* 18:1165–1178. <https://doi.org/10.1101/gad.1184704>
81. Maragkakis M, Reczko M, Simossis VA, et al (2009) DIANA-microT web server: elucidating microRNA functions through target prediction. *Nucleic Acids Res* 37:W273. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKP292>
82. Maragkakis M, Alexiou P, Papadopoulos GL, et al (2009) Accurate microRNA target prediction correlates with protein repression levels. *BMC Bioinformatics* 10:295. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-295>
83. Maragkakis M, Vergoulis T, Alexiou P, et al (2011) DIANA-microT Web server upgrade supports Fly and Worm miRNA target prediction and bibliographic miRNA to disease association. *Nucleic Acids Res* 39:W145. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKR294>
84. Paraskevopoulou MD, Georgakilas G, Kostoulas N, et al (2013) DIANA-microT web server v5.0: service integration into miRNA functional analysis workflows. *Nucleic Acids Res* 41:169–173. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt393>
85. Ding J, Li X, Hu H (2018) CCmiR: A computational approach for competitive and cooperative microRNA binding prediction. *Bioinformatics* 34:198–206. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx606>
86. Koo J, Zhang J, Chaterji S (2018) Tiresias: Context-sensitive approach to decipher the presence and strength of microRNA regulatory interactions. *Theranostics* 8:277–291. <https://doi.org/10.7150/thno.22065>
87. Wen M, Cong P, Zhang Z, et al (2018) DeepMirTar: A deep-learning approach for predicting human miRNA targets. *Bioinformatics* 34:3781–3787. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty424>
88. Pla A, Zhong X, Rayner S (2018) miRAW: A deep learning-based approach to predict microRNA targets by analyzing whole microRNA transcripts
89. Mohebbi M, Ding L, Malmberg RL, et al (2018) Accurate prediction of human miRNA targets via graph modeling of the miRNA-target duplex. *J Bioinform Comput Biol* 16:. <https://doi.org/10.1142/S0219720018500130>
90. Maji RK, Khatua S, Ghosh Z (2020) A Supervised Ensemble Approach for Sensitive microRNA Target Prediction. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinforma* 17:37–46. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2018.2858252>

91. Kang H, Ahn H, Jo K, et al (2019) mirTime: Identifying Condition-Specific Targets of MicroRNA in Time-series Transcript Data using Gaussian Process Model and Spherical Vector Clustering. *Bioinformatics* 1–10. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz306>
92. Huang T, Huang X, Yao M (2019) Min3: Predict microRNA target gene using an improved binding-site representation method and support vector machine. *J Bioinform Comput Biol*. <https://doi.org/10.1142/S021972001950032X>
93. Chu YW, Chang KP, Chen CW, et al (2020) miRgo: integrating various off-the-shelf tools for identification of microRNA–target interactions by heterogeneous features and a novel evaluation indicator. *Sci Rep* 10:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58336-5>
94. REHMSMEIER M (2004) Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *RNA* 10:1507–1517. <https://doi.org/10.1261/rna.5248604>
95. Krüger J, Rehmsmeier M (2006) RNAhybrid: MicroRNA target prediction easy, fast and flexible. *Nucleic Acids Res*. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl243>
96. Xie W, Luo J, Pan C, Liu Y (2021) SG-LSTM-FRAME: A computational frame using sequence and geometrical information via LSTM to predict miRNA-gene associations. *Brief Bioinform*. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa022>
97. Jiang H, Yang M, Chen X, et al (2020) MiRTMC: A miRNA Target Prediction Method Based on Matrix Completion Algorithm. *IEEE J Biomed Heal Informatics*. <https://doi.org/10.1109/JBHI.2020.2987034>
98. Krek A, Grün D, Poy MN, et al (2005) Combinatorial microRNA target predictions. *Nat Genet* 37:495–500. <https://doi.org/10.1038/ng1536>
99. Grün D, Wang Y-LL, Langenberger D, et al (2005) MicroRNA target predictions across seven drosophilo species and comparison to mammalian targets. *PLoS Comput Biol* 1:0051–0066. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010013>
100. K C, N R (2006) Natural selection on human microRNA binding sites inferred from SNP data. *Nat Genet* 38:1452–1456. <https://doi.org/10.1038/NG1910>
101. Miranda KC, Huynh T, Tay Y, et al (2006) A Pattern-Based Method for the Identification of MicroRNA Binding Sites and Their Corresponding Heteroduplexes. *Cell* 126:1203–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.031>
102. Kertesz M, Iovino N, Unnerstall U, et al (2007) The role of site accessibility in microRNA target recognition. *Nat Genet* 39:1278–1284. <https://doi.org/10.1038/ng2135>
103. Moxon S, Moulton V, Kim JT (2008) A scoring matrix approach to detecting miRNA target sites. *Algorithms Mol Biol* 3:1–9. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-3-3>
104. van Dongen S, Abreu-Goodger C, Enright AJ (2008) Detecting microRNA binding and siRNA off-target effects from expression data. *Nat Methods* 5:1023–1025. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1267>
105. Hausser J, Zavolan M (2014) Identification and consequences of miRNA-target interactions-beyond repression of gene expression. *Nat Rev Genet* 15:599–612. <https://doi.org/10.1038/NRG3765>
106. Lutter D, Marr C, Krumsiek J, et al (2010) Intronic microRNAs support their host genes by mediating synergistic and antagonistic regulatory effects. *BMC Genomics* 2010 111 11:1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-224>
107. Arvey A, Larsson E, Sander C, et al (2010) Target mRNA abundance dilutes microRNA and siRNA activity. *Mol Syst Biol* 6:363
108. A R, S G-J, JL A, A B (2004) Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res* 14:1902–1910. <https://doi.org/10.1101/GR.2722704>
109. SETHUPATHY P, CORDA B, HATZIGEORGIOU AG (2006) TarBase: A comprehensive database of experimentally supported animal microRNA targets. *RNA* 12:192. <https://doi.org/10.1261/RNA.2239606>
110. Chiu H-S, Llobet-Navas D, Yang X, et al (2015) Cupid: simultaneous reconstruction of microRNA-target and ceRNA networks. *Genome Res* 25:257. <https://doi.org/10.1101/GR.178194.114>

111. Zhang W, Le TD, Liu L, et al (2016) Predicting miRNA targets by integrating gene Regulatory knowledge with Expression profiles. *PLoS One* 11:1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152860>
112. Fiannaca A, Rosa M La, Paglia L La, Urso A (2018) miRTissue: a web application for the analysis of miRNA-target interactions in human tissues. *BMC Bioinforma* 2018 19:15 19:61–71. <https://doi.org/10.1186/S12859-018-2418-5>
113. Wang P, Ning S, Wang Q, et al (2013) mirTarPri: Improved Prioritization of MicroRNA Targets through Incorporation of Functional Genomics Data. *PLoS One* 8:53685. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0053685>
114. J H, C T, D D, et al (2011) OMIT: a domain-specific knowledge base for microRNA target prediction. *Pharm Res* 28:3101–3104. <https://doi.org/10.1007/S11095-011-0573-8>
115. B Z, B X (2017) Improving prediction accuracy using decision-tree-based meta-strategy and multi-threshold sequential-voting exemplified by miRNA target prediction. *Genomics* 109:227–232. <https://doi.org/10.1016/J.YGENO.2017.04.003>
116. Leclercq M, Diallo AB, Blanchette M (2017) Prediction of human miRNA target genes using computationally reconstructed ancestral mammalian sequences. *Nucleic Acids Res* 45:556. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW1085>
117. Wang S, Kim J, Jiang X, et al (2014) GAMUT: GPU accelerated microRNA analysis to uncover target genes through CUDA-miRanda. *BMC Med Genomics* 7:S9. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-7-S1-S9>
118. Bradley T, Moxon S (2019) FilTar: Using RNA-Seq data to improve microRNA target prediction accuracy in animals. *bioRxiv* 0–6. <https://doi.org/10.1101/595322>
119. Coronello C, Benos P V. (2013) ComiR: Combinatorial microRNA target prediction tool. *Nucleic Acids Res* 41:159–164. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt379>
120. Oliveira AC, Bovolenta LA, Nachtigall PG, et al (2017) Combining Results from Distinct MicroRNA Target Prediction Tools Enhances the Performance of Analyses. *Front Genet* 8:. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2017.00059>
121. Ebert MS, Sharp PA (2010) MicroRNA sponges: Progress and possibilities. *RNA* 16:2043. <https://doi.org/10.1261/RNA.2414110>
122. Paugh SW, Coss DR, Bao J, et al (2016) MicroRNAs Form Triplexes with Double Stranded DNA at Sequence-Specific Binding Sites; a Eukaryotic Mechanism via which microRNAs Could Directly Alter Gene Expression. *PLoS Comput Biol* 12:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1004744>
123. Chen H, Zhang Z (2013) Similarity-based methods for potential human microRNA-disease association prediction. *BMC Med Genomics* 2013 6:1 6:1–9. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-6-12>
124. Chen X, Sun L-G, Zhao Y (2021) NCMCMDA: miRNA–disease association prediction through neighborhood constraint matrix completion. *Brief Bioinform* 22:485–496. <https://doi.org/10.1093/BIB/BBZ159>
125. Gong Y, Niu Y, Zhang W, Li X (2019) A network embedding-based multiple information integration method for the MiRNA-disease association prediction. *BMC Bioinforma* 2019 20:1 20:1–13. <https://doi.org/10.1186/S12859-019-3063-3>
126. Zhao H, Kuang L, Wang L, et al (2018) Prediction of microRNA-disease associations based on distance correlation set. *BMC Bioinforma* 2018 19:1 19:1–14. <https://doi.org/10.1186/S12859-018-2146-X>
127. Zhong Y, Xuan P, Wang X, et al (2018) A non-negative matrix factorization based method for predicting disease-associated miRNAs in miRNA-disease bilayer network. *Bioinformatics* 34:267. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTX546>
128. Mugunga I, Ju Y, Liu X, Huang X (2017) Computational prediction of human disease-related microRNAs by path-based random walk. *Oncotarget* 8:58526. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.17226>
129. W P, W L, J Z, et al (2017) A novel method of predicting microRNA-disease associations based on microRNA, disease, gene and environment factor networks. *Methods* 124:69–77. <https://doi.org/10.1016/J.YMETH.2017.05.024>
130. P F-T, S T, T G, et al (2016) spongeScan: A web for detecting microRNA binding elements in lncRNA sequences. *Nucleic Acids Res* 44:W176–W180. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW443>

131. J Z, L L, T X, et al (2019) miR spongeR: an R/Bioconductor package for the identification and analysis of miRNA sponge interaction networks and modules. *BMC Bioinformatics* 20:. <https://doi.org/10.1186/S12859-019-2861-Y>
132. H N, R K, R Z (2011) MIRTFnet: analysis of miRNA regulated transcription factors. *PLoS One* 6:. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0022519>
133. C L, Y H, R S (2008) Transcription factor and microRNA motif discovery: the Amadeus platform and a compendium of metazoan target sets. *Genome Res* 18:1180–1189. <https://doi.org/10.1101/GR.076117.108>
134. Urbanek-Trzeciak MO, Jaworska E, Krzyzosiak WJ (2018) miRNAmotif—A Tool for the Prediction of Pre-miRNA–Protein Interactions. *Int J Mol Sci* 19:. <https://doi.org/10.3390/IJMS19124075>
135. Huang Y-A, Chan KCC, You Z-H (2018) Constructing prediction models from expression profiles for large scale lncRNA–miRNA interaction profiling. *Bioinformatics* 34:812. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTX672>
136. Paraskevopoulou MD, Vlachos IS, Karagkouni D, et al (2016) DIANA-LncBase v2: indexing microRNA targets on non-coding transcripts. *Nucleic Acids Res* 44:D231. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV1270>