

Surgimiento de los micro-RNA como biomarcadores potenciales en diversas enfermedades

José Vicente Forero-Forero¹, Laura Yuriko González-Teshima¹,
Ana María Cabal-Herrera¹, Julián Ramírez-Cheyne², Andrés Castillo-Giraldo³

RESUMEN

El objetivo de esta revisión es evidenciar el potencial de los micro-RNA (mi-RNA) como biomarcadores en diferentes enfermedades. Los mi-RNA son ácidos nucleicos de ≈ 22 nucleótidos que regulan la traducción de RNA mensajeros (mRNA) codificantes y producen una regulación postranscripcional de la expresión génica. La mayoría de ellos son altamente conservados y tienen una distribución tisular específica, de manera que juegan un papel importante como reguladores de la función celular y la fisiopatología de los diferentes órganos del cuerpo humano. Los mi-RNA surgen como candidatos para ser biomarcadores debido a que se han encontrado cambios en su expresión en diversas enfermedades (cáncer, daño hepático y cardiopatías), con alteración de sus niveles en plasma, suero, orina y saliva. Sin embargo, aunque algunos presentan consistencia en su perfil de expresión, otros han sido reportados como posibles candidatos para más de una enfermedad, lo que limita su especificidad y su utilidad diagnóstica. Es pertinente hacer nuevos estudios que ahonden sobre su significado en procesos patológicos y sobre su papel como posibles biomarcadores.

PALABRAS CLAVE

Enfermedades Cardiovasculares; Hepatopatías; Marcadores Biológicos; MicroARN; Neoplasias

SUMMARY

Emergence of micro-RNAs as potential biomarkers in different diseases

The objective of this review is to evidence the potential of micro-RNAs (mi-RNAs) as possible diagnostic biomarkers in different diseases. Micro-RNAs are nucleic acids of 22 nucleotides

¹ Estudiante de Medicina y Cirugía, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

² Médico. Profesor del Departamento de Morfología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

³ Profesor del Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

Correspondencia: Julián Ramírez-Cheyne; juracheyne@gmail.com

Recibido: mayo 28 de 2015

Aceptado: agosto 20 de 2015

Cómo citar: Forero-Forero JV, González-Teshima LY, Cabal-Herrera AM, Ramírez-Cheyne J, Castillo-Giraldo A. Surgimiento de los micro-RNA como biomarcadores potenciales en diversas enfermedades. *Iatreia*. 2016 Jul-Sep;29(3):323-333. DOI 10.17533/udea.iatreia.v29n3a07.

that regulate the translation of coding messenger RNAs (mRNAs), and produce a post-transcriptional regulation of genetic expression. Most mi-RNAs are highly conserved and show a tissue-specific distribution; therefore, they play an important role in the regulation of cell function and the physiopathology of different organs. Micro-RNAs emerge as potential candidates for biomarkers due to the changes in their levels of expression in different situations (cancer, hepatic and cardiovascular diseases) and in fluids such as plasma, serum, urine and saliva. However, although some mi-RNAs have a consistent expression profile, others have been reported as possible biomarkers for more than one disease, thus limiting their specificity and usefulness as diagnostic tools. Further studies are important to define the significance of mi-RNAs in pathologic processes and their role as possible biomarkers.

KEY WORDS

Biological Markers; Cardiovascular Diseases; Liver Diseases; MicroRNAs; Neoplasms

RESUMO

Surgimento dos micro-RNA como bio-marcadores potenciais em diversas doenças

O objetivo desta revisão é evidenciar o potencial dos micro-RNA (mi-RNA) como bio-marcadores em diferentes doenças. Os mi-RNA são ácidos nucleicos de ≈ 22 nucleótidos que regulam a tradução de RNA mensageiros (mRNA) codificantes e produzem uma regulação pós-transcricional da expressão gênica. A maioria desses são altamente conservados e tem uma distribuição tissular específica, de maneira que jogam um papel importante como reguladores da função celular e a fisiopatologia dos diferentes órgãos do corpo humano. Os mi-RNA surgem como candidatos para ser bio-marcadores devido a que se não encontrado câmbios em sua expressão em diversas doenças (câncer, dano hepático e cardiopatias), com alteração de seus níveis em plasma, soro, urina e saliva. Embora, ainda alguns apresentam consistência em seu perfil de expressão, outros não são reportados como possíveis candidatos para mais de uma doença, o que limita sua especificidade e sua utilidade diagnóstica. É pertinente fazer novos estudos que abondem sobre

seu significado em processos patológicos e sobre seu papel como possível bio-marcadores.

PALAVRAS CHAVE

Doenças Cardiovasculares; Hepatopatias; Marcadores Biológicos; MicroARN; Neoplasias

INTRODUCCIÓN

En la última década del siglo XX se descubrió un novedoso mecanismo epigenético de control postranscricional en las plantas y en *Caenorhabditis elegans*, que se denominó RNA de interferencia, o RNAi. Los protagonistas del mecanismo son moléculas pequeñas de RNA que, en asociación con las proteínas de la familia Argonauta, crean complejos capaces de reconocer moléculas de RNA o DNA e interactuar con ellas (1). Uno de estos mecanismos es la vía de silenciamiento de genes mediado por micro-RNA o mi-RNA (1).

Estos mi-RNA tienen un alto potencial como biomarcadores para diversas enfermedades porque se pueden detectar en la circulación sanguínea, la saliva y el líquido cefalorraquídeo con una estabilidad sorprendente (2,3). Incluso se ha visto que permanecen estables durante el almacenamiento prolongado, la ebullición, los ciclos de fusión-congelamiento y los cambios de pH. Esto se debe al transporte acoplado a vesículas, proteínas como las de la familia Argonauta o complejos lipoproteicos como la lipoproteína de alta densidad (HDL) (3).

Los mi-RNA son ácidos nucleicos de ≈ 22 nucleótidos que regulan la traducción de mRNA codificantes. Los genes que codifican para estos RNA están localizados, comúnmente, en grupos policistrónicos dentro de los cromosomas. Algunos de estos mi-RNA son codificados por sus propios genes ($\approx 42\%$ intergénicos), mientras que otros están incluidos dentro de genes codificantes para proteínas ya sean intrónicos ($\approx 44\%$), exónicos ($\approx 7\%$) o de las regiones no traducidas 3'(3'UTR) ($\approx 1,5\%$) y 5'UTR ($\approx 1\%$) (4).

La producción de mi-RNA maduros es un proceso dividido en dos fases (transcripción de los genes y procesamiento postranscricional) (4,5). La primera fase es la producción de mi-RNA primarios la cual, dependiendo de si el mi-RNA es intergénico o intragénico, consta de uno o dos pasos. Si se trata de

un mi-RNA intergénico, la RNA polimerasa II o III lo transcribe a un mi-RNA primario (pri-mi-RNA) que puede ser de algunas kilobases de largo. Los mi-RNA cuyos genes se encuentran dentro de un gen codificante para proteína tienen que pasar por un proceso de maduración del mRNA por corte de intrones y empalme de exones, para producir su pri-mi-RNA. La segunda fase consta de cuatro pasos; el primero es la escisión de una parte del pri-mi-RNA por parte de la RN-asa endonucleasa III (DrosHa) y la proteína con la cual se acopla, DGCR8 (Pasha) para producir los mi-RNA precursores (pre-mi-RNA); el segundo paso es la translocación del pre-mi-RNA por las proteínas RanGTP y Exportina 5 (Exp-5); una vez en el citoplasma, la ribonucleasa citoplasmática RNasa III (Dicer) junto con las proteínas TRBP y PACT cortan los bucles de los pre-mi-RNA dejando como producto un par de cadenas de ≈ 22 nucleótidos, uno de ellos el mi-RNA maduro, y el otro, una secuencia llamada pasajera que se degrada posteriormente; el cuarto y último paso de esta fase es la asociación con el *complejo silenciador* inducido por RNA (RISC), que es formado en los mamíferos por las proteínas Dicer, TRBP, PACT, Gremlin 3 y una de la familia Argonau-ta (AGO) que lleva a cabo el silenciamiento de los mRNA (figura 1) (4).

En los mamíferos se han hallado cuatro proteínas AGO diferentes vinculadas a la conservación extracelular de los mi-RNA y, como se explicó anteriormente, en la formación del RISC. En solo una de las cuatro (AGO2) se ha evidenciado una actividad de ribonucleasa que es importante para el silenciamiento de los mRNA posterior al reconocimiento por el mi-RNA del RISC correspondiente. Cabe aclarar que el reconocimiento mi-RNA-mRNA se da por complementariedad de una secuencia semilla que forma parte del mi-RNA, pero no por toda la secuencia de nucleótidos (4). Así, la función de los mi-RNA consiste en la regulación postranscripcional de la expresión génica, mediante el bloqueo por complementariedad parcial antisentido en las regiones no traducibles (UTR) del mRNA blanco. Cada mi-RNA puede inhibir varios mRNA y cada mRNA puede ser el blanco de diferentes mi-RNA. La mayoría de los mi-RNA son altamente conservados y muestran una distribución específica de tejido, papel importante en la función celular y fisiopatológica de los diferentes órganos del cuerpo humano (6).

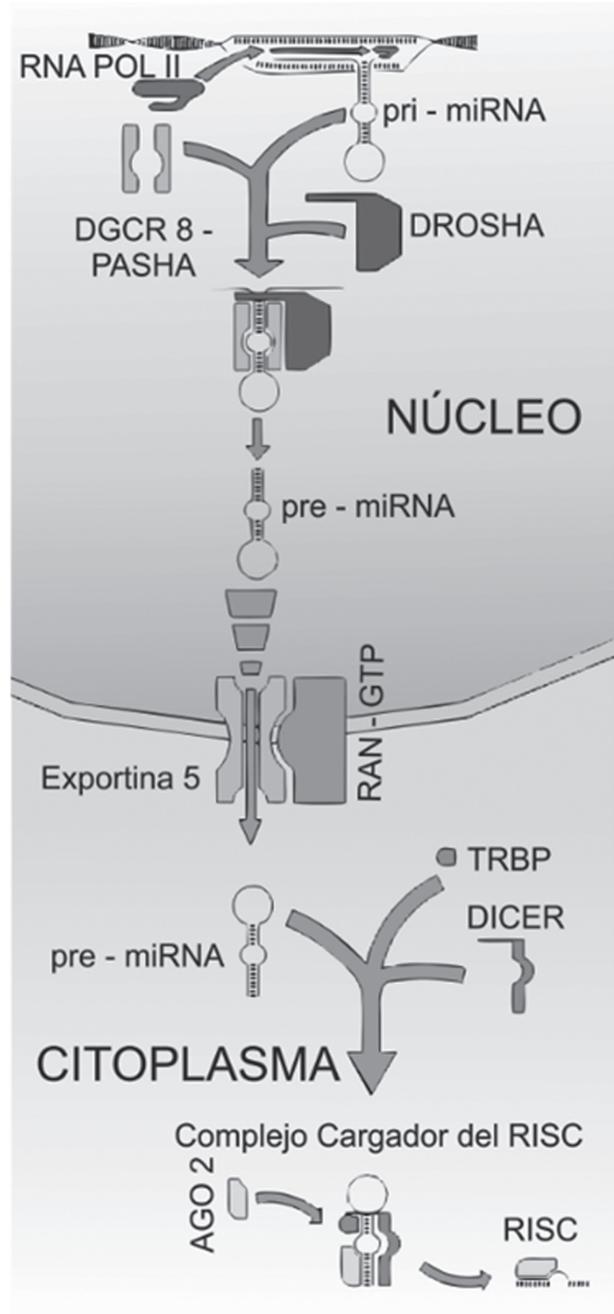


Figura 1. Biogénesis de los miRNA. RNA POL II: RNA polimerasa II. Pri-mi-RNA: micro-RNA primario. DGCR8-PASHA: proteína de la región crítica del síndrome de Di George 8. Pre-mi-RNA: micro-RNA precursor. Exportina 5 y RAN-GTP: transportadores de la membrana nuclear. AGO 2: proteína argonau-ta de unión a TRBP y Dicer con actividad RNasa. RISC: complejo silen-ciador inducido por RNA

Los mi-RNA juegan un papel regulador importante en muchos procesos celulares, incluyendo la diferenciación, la transformación neoplásica, la replicación y la regeneración celular. Se han encontrado cambios en la expresión de diferentes mi-RNA en diversas enfermedades, lo que ha llevado a estudiarlos como biomarcadores potenciales. Como se mencionó anteriormente, los mi-RNA se pueden encontrar en diferentes fluidos en los que presentan varias características de buenos biomarcadores: son estables, las secuencias de la mayoría están conservadas entre diferentes especies, la expresión de algunos mi-RNA es específica de tejidos o escenarios biológicos y sus niveles se pueden estudiar fácilmente por varios métodos como los basados en microarreglos (7-9). Ya se han asociado los cambios en el nivel de varios mi-RNA en plasma, suero, orina y saliva con diferentes enfermedades incluyendo cánceres, daño hepático y cardiopatías. Además, el uso de los niveles de mi-RNA específicos para órganos en fluidos corporales puede ser una posibilidad importante para monitorear condiciones fisiopatológicas de órganos específicos.

Los mi-RNA circulantes tienen otras ventajas como biomarcadores informativos en comparación con los biomarcadores sanguíneos basados en proteínas. Mientras que una cantidad baja de proteína en sangre puede obstaculizar la detección de algunos biomarcadores basados en proteínas, la mayoría de los mi-RNA circulantes se pueden detectar con facilidad por métodos como la PCR. Además, los biomarcadores proteicos sufren diferentes modificaciones posttraduccionales que pueden afectar la exactitud de la medición, mientras que las especies de mi-RNA son relativamente homogéneas. El hecho de que se hayan encontrado y establecido algunos mi-RNA con un perfil de expresión muy específico para algunos órganos abre la posibilidad importante de utilizar sus niveles en sangre para monitorear de forma precisa el estado de órganos específicos. Encontrar biomarcadores informativos no es solo clave para entender la fisiopatología de procesos patológicos, sino que también resulta crítico para el desarrollo de nuevas terapias (7).

Se ha informado el potencial de los mi-RNA como biomarcadores en diferentes enfermedades. La mayoría de los esfuerzos se han enfocado en el descubrimiento

de biomarcadores en neoplasias, pero cabe destacar otros tipos de enfermedades no neoplásicas como cardiovasculares, hepáticas, pulmonares y autoinmunes. Hasta el momento las investigaciones con mayor evidencia se han hecho en cáncer y en menor medida en enfermedades hepáticas y cardiovasculares. A continuación se profundiza un poco más en estas tres áreas.

Micro-RNA como biomarcadores potenciales en cáncer

Debido a la regulación fundamental que tienen a su cargo, los mi-RNA no podían estar ausentes en el proceso de desarrollo y formación del cáncer; de ahí que jueguen un papel crucial en el establecimiento del diagnóstico, el pronóstico e incluso la respuesta a los tratamientos antineoplásicos (8-10).

El gran potencial de los mi-RNA de influir sobre el proceso de desarrollo tumoral se debe a la acción reguladora que ejercen muchos de ellos sobre procesos vitales para el desarrollo de las neoplasias como la proliferación celular, la apoptosis y la angiogénesis, e incluso sobre la organogénesis y la hematopoyesis. Se ha implicado a los mi-RNA en el desarrollo de muchas neoplasias como leucemia, neuroblastoma, adenoma hipofisiario, cáncer de mama, de tiroides, colorrectal, de pulmón y hepatocarcinoma (11).

Se ha encontrado una serie de mi-RNA implicados en cada una de las etapas de desarrollo del cáncer. Esto se debe posiblemente a dos elementos, a saber: primero, que los mi-RNA están regulados por oncogenes o genes supresores de tumor (12,13) por lo que son elementos importantes en el desarrollo tumoral. En segundo lugar, se ha evidenciado que un gran número de mi-RNA identificados en tejidos tumorales tienen dianas similares a los oncogenes o a los genes supresores de tumor, modulando las vías de expresión de estos genes, con lo que adquieren gran importancia en el entendimiento del desarrollo tumoral (11). Por ejemplo, se ha visto que algunos mi-RNA juegan un papel importante en la regulación de los primeros pasos de las metástasis, específicamente en el proceso de invasión del mesénquima por las células epiteliales cancerosas, lo que le confiere la malignidad al tumor (tabla 1) (14).

Su potencial como biomarcadores nace de la identificación de diversos mi-RNA circulantes tanto en sangre completa como en suero en concentraciones similares (15); su extracción permite identificar perfiles específicos de expresión de mi-RNA para los diferentes tipos de cáncer cuyos niveles difieren de los obtenidos en individuos sanos (11,16), lo que permite la distinción y convierte a los mi-RNA en una poderosa herramienta diagnóstica.

Igualmente, la identificación de perfiles específicos de expresión de mi-RNA ha permitido clasificar, con base en los niveles de expresión de algunos de estos biomarcadores, el tejido de origen de algunos tumores

mal diferenciados (17). En la identificación del origen de metástasis los mi-RNA han superado a los mRNA; se considera que los primeros son biomarcadores más confiables y distintivos para este propósito (11).

Aún no se ha descrito la importancia clínica de los perfiles de expresión de los mi-RNA para el cáncer, pero prometen ser excelentes biomarcadores específicos para el diagnóstico y pronóstico de esta enfermedad (18). Se ha propuesto a los mi-RNA como biomarcadores para la detección temprana y el pronóstico de cáncer de ovario, colorrectal, pancreático, mamario, pulmonar, prostático, gástrico, hepatocelular y glioblastoma (tabla 2) (11,19).

Tabla 1. Micro-RNA identificados en cáncer

Proceso en que están implicados	mi-RNA	Mecanismo de acción	Referencia
Apoptosis Ciclo celular Proliferación	195	Regula los genes WEE1, CDK6, y Bcl-2	(20)
Angiogénesis tumoral	19b-1	Actúa sobre mRNA de la proteína proangiogénica FGFR2 y bloquea el ciclo celular (fase S a G2/M) por control de la expresión de la ciclina D1	(21)
Prooncogénicos			
Antiapoptótico	128-2	Aumenta la expresión de la proteína citoplasmática p21(waf1), que inhibe el clivaje de la procaspasa-3 a caspasa 3	(22,23)
Supervivencia y progresión tumoral	16	Expresión aumentada en fibroblastos asociados a cáncer de vejiga	(11,24,25)
	320		
	503		
	424		
	29b		
	146a	Expresión aumentada en fibroblastos asociados a cáncer de endometrio	(26)
	31		

Micro-RNA como biomarcadores potenciales en enfermedades cardiovasculares

La regulación mediada por mi-RNA ha sido vinculada a procesos patológicos de alteración endotelial relacionados con la edad que alteran la función protectora vascular de este tejido. En particular se ha

documentado el aumento de miR-29 en células endoteliales senescentes en cultivo y se ha vinculado con una disminución en la producción de elastina y de colágeno que lleva a susceptibilidad a la formación de aneurismas. Esto a tal punto que se logró demostrar en modelos murinos un efecto protector de la inhibición de miR-29 para la formación de aneurismas (3).

Tabla 2. Micro-RNA identificados como biomarcadores potenciales para la detección temprana y el pronóstico de diferentes tipos de cáncer

Cáncer	mi-RNA (mi-R) asociados		
	Detección temprana	Bueno	Pronóstico Malo
Cáncer de pulmón no microcítico	mi-R-17-3p, mi-R-21, mi-R-106a, mi-R-146, mi-R-155, mi-R-191, mi-R-192, mi-R-203, mi-R-205, mi-R-210, mi-R-212, mi-R-214, mi-R-486-5p, mi-R-25, mi-R-223 (16,27,28)		mi-R-221, mi-R-222 (29) mi-R-21 (30)
Carcinoma pulmonar de células escamosas	mi-R 210, mi-R-708, mi-R-205 *(31)		
Adenocarcinoma pulmonar	mi-R-21, mi-R-486, mi-R-375, mi-R-200b (31)	miR-486, miR-30d, miR-1 and miR-499 (32)	
Cáncer de mama	mi-R-100, mi-R- 99a, mi-R-130a, mi-R-126, mi-R-136, mi-R-146b, mi-R-15b, mi-R-107, mi-R-103 (33) mi-R-155, mi-R-10b, mi-R-34a, mi-R-155 (13) mi-R- 195 (34) mi-R-29, mi-R-21 (35), mi-R-16, mi-R-25, mi-R-222, mi-R-324-3p (36)		mi-R-213, mi-R-203 (37) mi-R-21, 116,117 mi-R-10b, mi-R-34a, mi-R-155 (13)
Cáncer de próstata	mi-R-96, mi-R-182, mi-R-182/, mi-R-183, mi-R-375 (38) mi-R-16, mi-R-31, mi-R-125b, mi-R-145, mi-R-149, mi-R-181b, mi-R-184, mi-R-205, mi-R-221, mi-R-222 (31)		mi-R-375, mi-R-141 (39)
Cáncer de próstata de alto riesgo	mi-R-141, mi-R-375 (39)		
Cáncer colorrectal	mi-R-143, mi-R-145 (40) mi-R-221 (41)		mi-R-21 (42) mi-R-221 (34)
Cáncer pancreático	mi-R-21, mi-R-210, mi-R-155, mi-R-196a (43)		mi-R-196a-2 (44)
Cáncer gástrico	mi-R-20b, mi-R-20a, mi-R-17, mi-R-106a, mi-R-18a, mi-R-21, mi-R-106b, mi-R-18b, mi-R-421, mi-R-340, mi-R-19a, mi-R- 658 (45)		
Carcinoma hepatocelular	mi-R-18, mi-R-224, pre-mi-R-18, mi-R-199a, mi-R-199a, mi-R-200a, mi-R-125a, mi-R-195 (46)	mi-R-125 (47)	mi-R-221 (48)
Glioblastoma	mi-R-21, mi-R-221/222, mi-R-10b, mi-R-181a, mi-R-181b, mi-R-181c, mi-R-7, mi-R-128, mi-R-124, mi-R-137, mi-R-451, mi-R-129, mi-R-139, mi-R-218 (19)		mi-R-221, mi-R-222 (49)

Roncarati y colaboradores (50), por ejemplo, hicieron un estudio con el objetivo de caracterizar la expresión en plasma de 21 mi-RNA candidatos a biomarcadores en pacientes con cardiomiopatía hipertrófica (CH). Incluyeron 41 casos y 41 controles, apareados por edad y sexo, a quienes se les determinó el perfil de expresión de dichos mi-RNA y se relacionaron los niveles encontrados con cuatro parámetros imaginológicos de hipertrofia ventricular izquierda (HVI) y un puntaje de 0 a 4 para fibrosis usando captación tardía de gadolinio en la resonancia magnética cardíaca (RMC). Los parámetros para HVI fueron grosor máximo del

ventrículo izquierdo (VI) e índice de hipertrofia en el ecocardiograma transtorácico, y grosor máximo del VI e índice de masa del mismo (IMVI) en la RMC. Finalmente, compararon estos perfiles con los de HVI por aumento de presiones, específicamente en 12 pacientes con estenosis aórtica grave. Se encontró sensibilidad y especificidad de 5 mi-RNA (miR-29a, -27a, -199a-5p, -21, -155) para CH, y relación con al menos uno de los parámetros imaginológicos; de ellos, miR-29a demostró relación con tres de cuatro parámetros y tendencia con el cuarto (IMVI en RMC). Además, este miR aumenta en la HVI por CH en contraste con

otros mi-RNA hallados tanto en HVI por CH como por estenosis aórtica (50).

Otro mi-RNA cuyos niveles se elevan con la edad y que ha mostrado protección cardiovascular es miR-146 por su acción antiinflamatoria, que logra al inhibir la producción de la proteína quinasa asociada al receptor de interleucinas (IRAK) (3), por lo que su disminución se puede interpretar como biomarcador de un estado proinflamatorio, factor de riesgo para la formación de trombos debida a la ruptura de una placa aterosclerótica.

De manera específica y comprobada para el caso de enfermedad arterial coronaria (EAC) se ha visto que un aumento de la expresión y la liberación al torrente sanguíneo de miR-133 y -208a y la disminución de miR-17, -92a, -126, -145 y -155 se han asociado con el calibre de la placa aterosclerótica, medido por tomografía computarizada coronaria (3).

Biomarcadores para el infarto agudo de miocardio (IAM) han sido muy útiles en la clínica y son muy específicos; por ejemplo, se han evidenciado mi-RNA marcadores como miR-208 propios del tejido cardíaco y los miR-1, miR-133a/b, miR-499, miR-663b y miR-1291 abundantes en miocitos estriados (3,51). Una ventaja adicional de estos marcadores sobre las troponinas específicas en el IAM es la rapidez con que se encuentran los mi-RNA en la sangre después del evento. En modelos murinos se ha observado un cambio en los niveles plasmáticos de estas moléculas entre 15 minutos y una hora después del evento isquémico (3).

Micro-RNA como biomarcadores potenciales en enfermedades hepáticas

El estudio de la organogénesis y desarrollo del hígado ha llevado a la identificación de los mi-RNA como moléculas importantes para el proceso, y es probable que también lo sean en la regulación y diferenciación de los distintos linajes celulares. La expresión de miR-122 es específica para el hígado y la inhibición de su expresión en ratones ha llevado a la regulación negativa de enzimas del metabolismo del colesterol y de los lípidos. Se han identificado otros mi-RNA que se sobreexpresan en el hígado en formación, y debido a la relación entre los mi-RNA y el desarrollo hepático,

se ha empezado a relacionar también diferentes mi-RNA con distintos estadios de enfermedades hepáticas. Los mi-RNA han surgido como biomarcadores potenciales para enfermedades hepáticas crónicas, aunque los estudios más recientes se han centrado en el papel de estas moléculas en la carcinogénesis hepática (51).

En una evaluación crítica sobre los mi-RNA como biomarcadores para enfermedades no neoplásicas llevada a cabo por Haider y colaboradores se analizaron 12 estudios relacionados con enfermedades hepáticas, en los cuales se reportaron en total 24 biomarcadores para lesión hepática. Los mi-RNA propuestos se validaron al determinar los patrones de expresión celular, considerando como un buen biomarcador el que se expresara en un tipo celular implicado en la enfermedad estudiada y que no presentara una expresión ubicua, es decir, que no se expresara ampliamente en distintos tipos celulares. Los autores determinaron que 6 de los 24 mi-RNA propuestos para enfermedades hepáticas (25 %) eran biomarcadores probables. De estos seis, miR-122, conocido como un mi-RNA específico para hígado, presentó una expresión elevada en 9 estudios separados. La mayoría de los mi-RNA reportados como posibles biomarcadores para enfermedad hepática fueron considerados por el grupo de investigadores como inespecíficos con patrones de expresión ubicuos (52).

Micro-RNA en hepatitis virales

Se ha demostrado que en infecciones virales se presenta un cambio en el perfil de expresión de los mi-RNA y en algunos estudios se ha reportado que algunos virus RNA interactúan directamente con los mi-RNA del hospedero y/o usan estas moléculas para aumentar su potencial de replicación (53). Se han estudiado varios mi-RNA en hepatitis virales y se ha encontrado que los niveles plasmáticos de miR-122 muestran muy buena correlación con la actividad necrosante e inflamatoria de VHB (54) y VHC (55). Se ha propuesto que miR-122 puede contribuir al tropismo hepático del VHC al acelerar la unión del RNA viral a los ribosomas y estimular la traducción del material genético del virus (56). Esto indicó que la inhibición de miR-122 podría ser una estrategia para bloquear la replicación del VHC, de lo que resultó un estudio basado en el silenciamiento terapéutico del mi-RNA

en primates con infección crónica por VHC. Lanford y colaboradores utilizaron un oligonucleótido modificado para silenciar el mi-R-122 y encontraron que con ello se logró suprimir la viremia sin generar resistencia viral ni efectos secundarios en los chimpancés (57). Esto demuestra que los mi-RNA no solo tienen potencial diagnóstico, sino además un importante potencial terapéutico.

Se han hecho estudios de mi-RNA en otras enfermedades hepáticas como el daño por drogas, la fibrosis, la hepatopatía alcohólica, la esteatosis no alcohólica y el daño hepático agudo. Entre los mi-RNA reportados, los datos más consistentes corresponden a incrementos en los niveles de expresión de mi-RNA-221 y mi-RNA-223 en pacientes con carcinoma hepatocelular, y con respecto a las enfermedades no neoplásicas, los datos más consistentes corresponden a elevación de mi-RNA-21 y -122 en pacientes con hepatitis crónica u otros tipos de lesiones hepáticas virales o tóxicas (58).

CONCLUSIÓN

Las limitaciones de los estudios y las dificultades técnicas de los métodos empleados para la extracción, purificación, procesamiento y análisis de la expresión de los mi-RNA se reflejan en resultados discordantes sobre los perfiles de expresión de estas moléculas en diferentes estudios. Aunque parece que algunos mi-RNA candidatos para biomarcadores presentan consistencia en su perfil de expresión, otros han sido reportados como posibles marcadores para más de una enfermedad, lo que implica una limitación con respecto a su especificidad y utilidad en el diagnóstico. Sin embargo, el potencial de los mi-RNA como biomarcadores es promisorio por lo que es pertinente hacer nuevos estudios que ahonden sobre su significado en procesos patológicos y su relevancia como posibles biomarcadores de los mismos. Además, pueden ser dianas de nuevas intervenciones terapéuticas ofreciendo alternativas para diferentes pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ketting RF. MicroRNA Biogenesis and Function. In: Großhans H, editor. Regulation of microRNAs. New York, NY: Springer US; 2010. p. 1-14.
2. Turchinovich A, Weiz L, Langheinze A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res.* 2011 Sep;39(16):7223-33. DOI 10.1093/nar/gkr254.
3. De Rosa S, Curcio A, Indolfi C. Emerging role of microRNAs in cardiovascular diseases. *Circ J.* 2014;78(3):567-75.
4. Wang D, Yang B. Detection, Profiling, and Quantification of miRNA Expression. In: *MicroRNA expression detection methods.* New York, NY: Springer; 2010. p. 3-64.
5. Shen J, Xia W, Khotskaya YB, Huo L, Nakanishi K, Lim SO, et al. EGFR modulates microRNA maturation in response to hypoxia through phosphorylation of AGO2. *Nature.* 2013 May;497(7449):383-7. DOI 10.1038/nature12080.
6. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* [Internet]. 2004 Jan [cited 2014 Jul 17];116(2):281-97. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867404000455>
7. Etheridge A, Lee I, Hood L, Galas D, Wang K. Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat Res.* 2011 Dec;717(1-2):85-90. DOI 10.1016/j.mrfmmm.2011.05.004.
8. Cho WC. MicroRNAs in cancer - from research to therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2010 Apr;1805(2):209-17. DOI 10.1016/j.bbcan.2009.11.003.
9. Cho WC. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010 Aug;42(8):1273-81. DOI 10.1016/j.biocel.2009.12.014.
10. Asaga S, Kuo C, Nguyen T, Terpenning M, Giuliano AE, Hoon DS. Direct serum assay for microRNA-21 concentrations in early and advanced breast cancer. *Clin Chem.* 2011 Jan;57(1):84-91. DOI 10.1373/clinchem.2010.151845.
11. Allegra A, Alonci A, Campo S, Penna G, Petrunaro A, Gerace D, et al. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review). *Int J Oncol.* 2012 Dec;41(6):1897-912. DOI 10.3892/ijo.2012.1647.
12. Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Sci.* 2010 Oct;101(10):2087-92. DOI 10.1111/j.1349-7006.2010.01650.x.

13. Roth C, Rack B, Müller V, Janni W, Pantel K, Schwarzenbach H. Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2010;12(6):R90. DOI 10.1186/bcr2766.
14. Bullock MD, Sayan AE, Packham GK, Mirnezami AH. MicroRNAs: critical regulators of epithelial to mesenchymal (EMT) and mesenchymal to epithelial transition (MET) in cancer progression. *Biol Cell.* 2012 Jan;104(1):3-12. DOI 10.1111/boc.201100115.
15. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanian EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Jul;105(30):10513-8. DOI 10.1073/pnas.0804549105.
16. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008 Oct;18(10):997-1006. DOI 10.1038/cr.2008.282.
17. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* [Internet]. 2005 Jun [cited 2014 Jul 9];435(7043):[834-8]. Available from: <http://www.nature.com/nature/journal/v435/n7043/full/nature03702.html>
18. Wentz-Hunter KK, Potashkin JA. The Role of miRNAs as Key Regulators in the Neoplastic Microenvironment. *Mol Biol Int.* 2011;2011:839872. DOI 10.4061/2011/839872.
19. Shen J, Stass SA, Jiang F. MicroRNAs as potential biomarkers in human solid tumors. *Cancer Lett.* 2013 Feb;329(2):125-36. DOI 10.1016/j.canlet.2012.11.001.
20. He JF, Luo YM, Wan XH, Jiang D. Biogenesis of MiRNA-195 and its role in biogenesis, the cell cycle, and apoptosis. *J Biochem Mol Toxicol.* 2011 Nov-Dec;25(6):404-8. DOI 10.1002/jbt.20396.
21. Yin R, Bao W, Xing Y, Xi T, Gou S. MiR-19b-1 inhibits angiogenesis by blocking cell cycle progression of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jan 13;417(2):771-6. DOI 10.1016/j.bbrc.2011.12.032.
22. Donzelli S, Fontemaggi G, Fazi F, Di Agostino S, Padula F, Biagioni F, et al. MicroRNA-128-2 targets the transcriptional repressor E2F5 enhancing mutant p53 gain of function. *Cell Death Differ.* 2012 Jun;19(6):1038-48. DOI 10.1038/cdd.2011.190.
23. Putt KS, Chen GW, Pearson JM, Sandhorst JS, Hoagland MS, Kwon JT, et al. Small-molecule activation of procaspase-3 to caspase-3 as a personalized anti-cancer strategy. *Nat Chem Biol.* 2006 Oct;2(10):543-50. DOI 10.1038/nchembio814.
24. Schaar DG, Medina DJ, Moore DF, Strair RK, Ting Y. miR-320 targets transferrin receptor 1 (CD71) and inhibits cell proliferation. *Exp Hematol.* 2009 Feb;37(2):245-55. DOI 10.1016/j.exphem.2008.10.002.
25. Ichimi T, Enokida H, Okuno Y, Kunimoto R, Chiyo-maru T, Kawamoto K, et al. Identification of novel microRNA targets based on microRNA signatures in bladder cancer. *Int J Cancer.* 2009 Jul;125(2):345-52. DOI 10.1002/ijc.24390.
26. Aprelikova O, Yu X, Palla J, Wei BR, John S, Yi M, et al. The role of miR-31 and its target gene SATB2 in cancer-associated fibroblasts. *Cell Cycle.* 2010 Nov;9(21):4387-98.
27. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006 Mar;9(3):189-98.
28. Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, et al. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest.* 2011 Apr;91(4):579-87. DOI 10.1038/labinvest.2010.194.
29. Garofalo M, Di Leva G, Romano G, Nuovo G, Suh SS, Ngan-keu A, et al. miR-221&222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 downregulation. *Cancer Cell.* 2009 Dec;16(6):498-509. DOI 10.1016/j.ccr.2009.10.014.
30. Wang ZX, Bian HB, Wang JR, Cheng ZX, Wang KM, De W. Prognostic significance of serum miRNA-21 expression in human non-small cell lung cancer. *J Surg Oncol.* 2011 Dec;104(7):847-51. DOI 10.1002/jso.22008.
31. Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers. *Int J Cancer.* 2010 Dec;127(12):2870-8. DOI 10.1002/ijc.25289.
32. Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Apr;28(10):1721-6. DOI 10.1200/JCO.2009.24.9342.

33. Blenkiron C, Goldstein LD, Thorne NP, Spiteri I, Chin SF, Dunning MJ, et al. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Biol.* 2007;8(10):R214.
34. Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Newell J, Kerin MJ. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. *Ann Surg.* 2010 Mar;251(3):499-505. DOI 10.1097/SLA.0b013e3181cc939f.
35. Wu Q, Lu Z, Li H, Lu J, Guo L, Ge Q. Next-generation sequencing of microRNAs for breast cancer detection. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:597145. DOI 10.1155/2011/597145.
36. Hu Z, Dong J, Wang LE, Ma H, Liu J, Zhao Y, et al. Serum microRNA profiling and breast cancer risk: the use of miR-484/191 as endogenous controls. *Carcinogenesis.* 2012 Apr;33(4):828-34. DOI 10.1093/carcin/bgs030.
37. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res.* 2005 Aug;65(16):7065-70.
38. Schaefer A, Jung M, Mollenkopf HJ, Wagner I, Stephan C, Jentzmik F et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma. *Int J Cancer.* 2010 Mar;126(5):1166-76. DOI 10.1002/ijc.24827.
39. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Fälth M, Haese A, Steuber T, et al. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. *Int J Cancer.* 2011 Feb;128(3):608-16. DOI 10.1002/ijc.25376.
40. Akao Y, Nakagawa Y, Naoe T. MicroRNA-143 and -145 in colon cancer. *DNA Cell Biol.* 2007 May;26(5):311-20.
41. Pu XX, Huang GL, Guo HQ, Guo CC, Li H, Ye S, et al. Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010 Oct;25(10):1674-80. DOI 10.1111/j.1440-1746.2010.06417.x.
42. Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, et al. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology.* 2007;72(5-6):397-402. DOI 10.1159/000113489.
43. Wang J, Chen J, Chang P, LeBlanc A, Li D, Abbruzzese JL, et al. MicroRNAs in plasma of pancreatic ductal adenocarcinoma patients as novel blood-based biomarkers of disease. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009 Sep;2(9):807-13. DOI 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0094.
44. Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, et al. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA.* 2007 May;297(17):1901-8.
45. Guo J, Miao Y, Xiao B, Huan R, Jiang Z, Meng D, et al. Differential expression of microRNA species in human gastric cancer versus non-tumorous tissues. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009 Apr;24(4):652-7. DOI 10.1111/j.1440-1746.2008.05666.x.
46. Ladeiro Y, Couchy G, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Pelletier L, Rebouissou S, et al. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations. *Hepatology.* 2008 Jun;47(6):1955-63. DOI 10.1002/hep.22256.
47. Li W, Xie L, He X, Li J, Tu K, Wei L, et al. Diagnostic and prognostic implications of microRNAs in human hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer.* 2008 Oct;123(7):1616-22. DOI 10.1002/ijc.23693.
48. Fornari F, Gramantieri L, Ferracin M, Veronese A, Sabbioni S, Calin GA, et al. MiR-221 controls CDKN1C/p57 and CDKN1B/p27 expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene.* 2008 Sep;27(43):5651-61. DOI 10.1038/onc.2008.178.
49. Conti A, Aguenouz M, La Torre D, Tomasello C, Cardali S, Angileri FF, et al. miR-21 and 221 upregulation and miR-181b downregulation in human grade II-IV astrocytic tumors. *J Neurooncol.* 2009 Jul;93(3):325-32. DOI 10.1007/s11060-009-9797-4.
50. Roncarati R, Viviani Anselmi C, Losi MA, Papa L, Cavarretta E, Da Costa Martins P, et al. Circulating miR-29a, among other up-regulated microRNAs, is the only biomarker for both hypertrophy and fibrosis in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2014 Mar;63(9):920-7. DOI 10.1016/j.jacc.2013.09.041.
51. Wang XW, Heegaard NH, Orum H. MicroRNAs in liver disease. *Gastroenterology.* 2012 Jun;142(7):1431-43. DOI 10.1053/j.gastro.2012.04.007.
52. Haider BA, Baras AS, McCall MN, Hertel JA, Cornish TC, Halushka MK. A critical evaluation of microRNA biomarkers in non-neoplastic disease.

- PLoS One. 2014 Feb;9(2):e89565. DOI 10.1371/journal.pone.0089565.
53. Gupta A, Swaminathan G, Martin-Garcia J, Navas-Martin S. MicroRNAs, hepatitis C virus, and HCV/HIV-1 co-infection: new insights in pathogenesis and therapy. *Viruses*. 2012 Oct;4(11):2485-513. DOI 10.3390/v4112485.
54. Zhang Y, Jia Y, Zheng R, Guo Y, Wang Y, Guo H, et al. Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases. *Clin Chem*. 2010 Dec;56(12):1830-8. DOI 10.1373/clinchem.2010.147850.
55. Bihrer V, Friedrich-Rust M, Kronenberger B, Forestier N, Haupenthal J, Shi Y, et al. Serum miR-122 as a biomarker of necroinflammation in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 2011 Sep;106(9):1663-9. DOI 10.1038/ajg.2011.161.
56. Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* [Internet]. 2005 Sep [cited 2015 Apr 30];309(5740):[1577-81]. Available from: <http://www.sciencemag.org/content/309/5740/1577.long>
57. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science*. 2010 Jan;327(5962):198-201. DOI 10.1126/science.1178178.
58. Xu J, Wu C, Che X, Wang L, Yu D, Zhang T, et al. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. *Mol Carcinog*. 2011 Feb;50(2):136-42. DOI 10.1002/mc.20712.

