



CIRUGÍA y CIRUJANOS

Órgano de difusión científica de la Academia Mexicana de Cirugía
Fundada en 1933

www.amc.org.mx www.elsevier.es/circir



INFORMACIÓN GENERAL

Micro ARN y su papel en la fisiopatología de la lesión medular; un paso más hacia la medicina neuroregenerativa



Jimena Quinzaños-Fresnedo^{a,*} y Roberto Carlos Sahagún-Olmos^b

^a División de Rehabilitación Neurológica, Instituto Nacional de Rehabilitación, México D.F., México

^b División de Rehabilitación Cardíaca, Instituto Nacional de Rehabilitación, México D.F., México

Recibido el 10 de febrero de 2014; aceptado el 6 de octubre de 2014

Disponible en Internet el 7 de julio de 2015

PALABRAS CLAVE

Lesión medular;
Micro ARN;
Fisiopatología

Resumen Dentro de la fisiopatología de la lesión medular, cada día se da más importancia a los procesos biológicos secundarios, con la participación de cambios en la expresión genética. Dentro de estos cambios, la expresión de diferentes microARN ha sido involucrada en algunos de los procesos fisiopatológicos de la lesión medular.

Existen diversos estudios que describen la expresión temporal de microARN en la lesión medular, algunos de ellos relacionados con la inflamación y la apoptosis, y otros con la recuperación funcional y la regeneración.

Estos microARN pueden ser blancos potenciales para el tratamiento de la lesión medular, al intervenir en los procesos de inflamación, oxidación y apoptosis, y en la recuperación funcional y regeneración.

Res ulta necesario continuar con el estudio de los microARN en la lesión medular, así como la identificación de sus genes blanco y los mecanismos de señalización que participan en sus efectos neurológicos. Con esto, el objetivo final será el desarrollo de estrategias terapéuticas y diagnósticas eficaces y seguras para los pacientes con lesión medular.

© 2015 Academia Mexicana de Cirugía A.C. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Spinal cord injuries;
Micro RNA;
Pathophysiology

Micro RNA and its role in the pathophysiology of spinal cord injury – a further step towards neuroregenerative medicine

Abstract In the pathophysiology of spinal cord injury, the secondary biological processes involving changes in gene expression become more important day a day. Within these changes, the expression of different microRNAs has been involved in some of the pathophysiological processes of spinal cord injury.

* Autor para correspondencia. Calzada México-Xochimilco 289, Col.: Arenal de Guadalupe, C.P. 14389, México D.F., México.
Tel.: +59991000 ext. 13410.

Correo electrónico: jimenaqf@hotmail.com (J. Quinzaños-Fresnedo).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.circir.2015.05.045>

0009-7411/© 2015 Academia Mexicana de Cirugía A.C. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

There are several studies that describe the transient expression of microRNA in spinal cord injury, some of them related to inflammation and apoptosis and others to functional recovery and regeneration.

MicroRNA may be a potential target for the treatment of spinal cord injury, modifying the processes of inflammation, oxidation, apoptosis, functional recovery and regeneration.

It is necessary to continue the study of microRNAs in spinal cord injury, as well as the identification of their target genes and signaling mechanisms involved in its neurological effects. With this, the ultimate goal is the development of effective and safe therapeutic and diagnostic strategies for patients with spinal cord injury.

© 2015 Academia Mexicana de Cirugía A.C. Published by Masson Doyma México S.A. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Antecedentes

El papel crítico de la médula espinal tiene un amplio rango de funciones fisiológicas que está claramente demostrado por el déficit observado posterior a una lesión medular y, por las condiciones médicas que se desarrollan en las diversas fases ulteriores. Esta lesión usualmente lleva a alteraciones neurológicas devastadoras y a discapacidad, que provocan no solo la pérdida de las capacidades sensoriales y motoras (paraplejía o tetraplejía), sino también otros problemas comunes relacionados con lesión medular tales como: complicaciones urinarias, problemas gastrointestinales, disfunción cardiorrespiratoria y deformidades musculoesqueléticas^{1,2}. A nivel mundial afecta principalmente a hombres de entre 18 a 32 años de edad, con una incidencia estimada de 23 casos por millón, en la lesión medular traumática (179,312 casos al año), con una incidencia pico bimodal en jóvenes adultos (20 a 29 años de edad en hombres y 15 a 19 años en mujeres), y adultos mayores (hombres mayores de 70 años y mujeres mayores de 60 años)².

Existen 2 principales mecanismos de daño en la lesión medular, a saber: un daño mecánico primario, y el daño secundario inducido por múltiples procesos biológicos que incluyen cambios temporales extensivos en la expresión genética^{3,4}. Dentro del daño secundario están la inflamación, la oxidación y la apoptosis³, y como consecuencia la formación de una cicatriz glial que actúa como una barrera tanto física como molecular para la regeneración axonal⁵. Sin embargo, se ha demostrado que la astrogliosis también juega un papel crucial, ya que restaura la homeostasis posterior a la lesión medular, al facilitar la reparación de la barrera hematoencefálica y limitar la infiltración de células inflamatorias^{6,7}. El efecto benéfico de la astrogliosis se ha encontrado en una fase temprana, hipertrófica, mientras que la fase hiperplásica tardía lleva a la formación de una cicatriz densa que impide la regeneración axonal^{8,9}.

Por otro lado, en relación con la apoptosis, se ha demostrado que esta no solo afecta a las neuronas, sino también a otras células de la médula espinal, como oligodendrocitos y células de la microglia⁶. La pérdida de oligodendrocitos en los tractos de materia blanca continúa después de semanas de la lesión medular, y puede contribuir a la desmielinización progresiva tras la lesión^{10,11}.

Se ha demostrado que la alteración en la expresión de diversos genes juega un papel importante en la patogénesis

del daño medular secundario^{3,4}. Sin embargo, poco se conoce de los mecanismos que regulan la alteración en la expresión de estos genes. Los micro ARN resultan candidatos atractivos como reguladores «río arriba» de la progresión secundaria del daño medular, ya que pueden regular series completas de genes de forma postraduccionales¹¹⁻¹³. Se han encontrado diversas formas de micro ARN en el sistema nervioso central de mamíferos, que incluyen al cerebro y a la médula espinal, donde juegan un papel esencial en el neurodesarrollo y parecen ser importantes mediadores de la plasticidad neuronal^{14,15}. Incluso algunos micro ARN han sido involucrados en enfermedades neurológicas severas como los síndromes de la Tourette y de X frágil¹⁶. Algunos estudios han sugerido la posibilidad de que los micro ARN estén involucrados en la neurodegeneración^{17,18}. Sin embargo, el papel de los micro ARN en la lesión medular aún permanece poco estudiado¹⁵, a pesar de que se ha demostrado la expresión de un gran número de micro ARN en la médula espinal de ratones adultos¹³.

A continuación se hace una breve revisión de la relación entre la lesión medular y los micro ARN.

Expresión de micro ARN en la lesión medular

Expresión temporal de micro ARN en la lesión medular

Liu et al.¹⁵ realizaron un experimento en ratas con lesión medular traumática para determinar la expresión temporal del micro ARN. Estos autores lograron demostrar que la médula espinal de la rata contiene aproximadamente el 77% (269) de los micro ARN identificados en la rata madura (350), lo que sugiere que la médula espinal es una rica fuente de micro ARN. De estos, 97 cambiaron de forma estadísticamente significativa después de la lesión de la médula. Así, 60 se expresaron en niveles moderados, altos y muy altos, y se clasificaron en 5 diferentes grupos. Los grupos A y C contienen micro ARN regulados al alza, el grupo D contiene micro ARN regulados a la baja y los grupos B y E contienen micro ARN que fueron regulados al alza a las 4 h de la lesión, y posteriormente regulados a la baja 1 y 7 días después de la lesión. Los 37 micro ARN restantes se expresaron a un nivel bajo y fueron inhibidos después de la lesión.

Debido a que la descompresión de la médula espinal es la principal opción de manejo quirúrgico, Ziu y su equipo¹⁹ realizaron un estudio para analizar la expresión espacial y temporal de los niveles de diferentes microARN y su relación con la duración de la compresión. Estos investigadores lograron demostrar que dependiendo del tiempo de compresión, la expresión temporal de algunos microARN es diferente. En particular, el miR-107 se sobrerregula en un modelo de compresión prolongada, mientras que sus niveles no varían en un modelo de compresión corta. Para el miR-148 encontraron que su expresión está sobrerregulada a las 3 y 6 h tras la lesión en compresión prolongada y después de las 6 h en compresión corta. Finalmente, encontraron que el miR-210 se sobrerregula a las 3, 6 y 24 h en el modelo de compresión prolongada, y exclusivamente después de las 24 h cuando la compresión es de corta duración.

MicroARN relacionados con la inflamación y la apoptosis

Por su parte, Sahni y su grupo⁹ realizaron un experimento en ratones con lesión medular para determinar el papel de las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP, por sus siglas en inglés) y sus receptores en la astrogliosis secundaria a la lesión medular. Estos autores lograron demostrar aumento significativo en los niveles de BMP4 a los 4, 7, y 15 días después de la lesión. Encontraron además aumento modesto en los niveles de BMP7 a los 4 días de la lesión, así como retorno a la basal a los 7 días. Junto con estos hallazgos, demostraron aumento en la transcripción del receptor 1a de la BMP (BMPR1a) y de la *glial fibrillary acidic protein* (GFAP) a los 4 y 7 días después de la lesión. La vía de señalización de las BMP involucra a las proteínas SMAD, y se ha demostrado que estas proteínas controlan el procesamiento postranscripcional del microARN-21 (miR-21)¹⁷. En relación a esto, Sahni y su equipo⁹ estudiaron el comportamiento de este microARN en sus ratones. Lograron demostrar que la señalización del BMPR1a regula de forma negativa el procesamiento citoplasmático del miR-21, de tal forma que el producto final procesado de este microARN suele estar inhibido en la lesión medular. Posteriormente, Bhalala et al.²⁰ hicieron un experimento en ratones transgénicos con la finalidad de entender el papel del miR-21 en la respuesta astrocítica tras la lesión medular. Para esto, generaron ratones con sobreexpresión del transcrito primario del miR-21 en astrocitos o con una esponja de microARN diseñada para inhibir la función del miR-21. Los autores demostraron que tras una lesión medular traumática, la sobreexpresión del miR-21 en astrocitos atenúa la respuesta hipertrófica, mientras que la expresión de la esponja aumenta el fenotipo hipertrófico, aun en etapas crónicas. Además, encontraron que la inhibición de la función del miR-21 se acompaña del aumento en la densidad axonal en el sitio de la lesión. Con estos resultados, los autores lograron demostrar un nuevo efecto del miR-21 en la regulación de la hipertrofia astrocítica y la progresión de la cicatriz glial tras la lesión medular.

También como parte del proceso inflamatorio, Izumi y su equipo²¹ se enfocaron en la expresión del miR-223 y lograron demostrar una alta expresión de ese microARN a las 12 h de la lesión medular. Además, sus datos indican que el miR-223

puede regular a los neutrófilos en la fase aguda de la lesión medular.

En relación a la apoptosis, Liu et al.²² en otro trabajo, demostraron un cambio significativo en la expresión de algunos microARN proapoptóticos en ratas con lesión medular; en efecto, encontraron un aumento en la expresión de Let-7a y miR-16 a los 10 días de la lesión, y disminución de los niveles de miR-15b.

MicroARN relacionados con la recuperación funcional y regeneración

La regeneración se refiere a la habilidad de reproducir réplicas precisas de estructuras perdidas, un fenómeno que se observa en algunas especies de vertebrados, como las salamandras, el ajolote y el pez cebra, pero perdida en los humanos. Los mecanismos moleculares mediante los cuales se lleva a cabo este proceso aún son inciertos²³. Se ha investigado el papel de los microARN en la regeneración de la médula espinal tras su lesión en algunas de estas especies.

Sehm y su grupo²³ realizaron un experimento en ajolotes para determinar el papel del miR-196 en la regeneración de la cola, posterior a su amputación. Estos autores demostraron aumento importante en la expresión del miR-196 en los primeros 14 días tras la amputación, que no se mantuvo posteriormente. Además, la inhibición del miR-196 produjo defectos importantes en la regeneración. Estos datos sugieren que este microARN juega un papel clave en las primeras etapas de la regeneración de la cola amputada en ajolotes.

En esta misma especie, Díaz Quiroz y su equipo²⁴ encontraron que el miR-125b es necesario para la recuperación funcional de la lesión medular. En efecto, estos autores demostraron que la disminución del miR-125b en el ajolote a niveles similares a los de la rata inhibe la regeneración mediante la sobrerregulación de un gen de «repulsión axonal», el Sema4D, que induce la formación de una cicatriz glial reminiscente.

Yu et al.²⁵ por su parte, estudiaron el papel del miR-133b en la recuperación funcional tras la lesión medular. Para esto, utilizaron un modelo de lesión medular en el pez cebra y demostraron una regulación a la alza del miR-133b en las neuronas que presentaban datos de regeneración posterior a la sección de la médula y la inhibición del miR-133b que resultó en la alteración de la recuperación motora, así como en la regeneración axonal disminuida.

Blancos potenciales del microARN en la lesión medular

Inflamación, oxidación y apoptosis

Liu et al.¹⁵ analizaron el papel del microARN después de la lesión medular al investigar blancos potenciales. Mediante un análisis bioinformático demostraron que estos blancos son genes que codifican para componentes involucrados en diversos procesos fisiopatológicos como inflamación, oxidación y apoptosis. Diversos genes inflamatorios son blancos potenciales del microARN regulados a la baja tras la lesión medular, como son miR-122, miR-181a, miR-411, miR-99a, miR-34a, miR-30c, miR-384-5p y miR-30b-5p. Por otro lado,

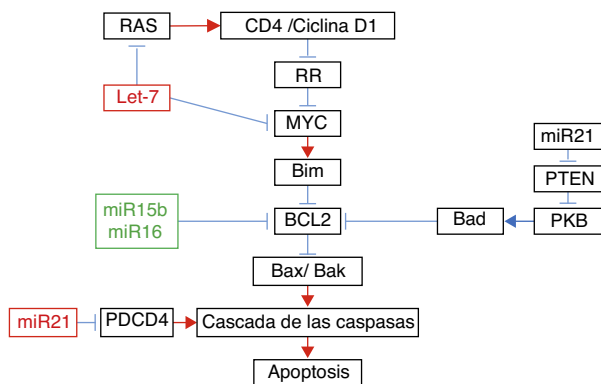


Figura 1 Relación entre diferentes microARN con sus genes blancos en apoptosis.

Adaptado con autorización de Liu et al.²²

varios genes antiinflamatorios antioxidativos son blancos potenciales para los microARN regulados a la alza después de la lesión medular, como lo son miR-221, miR-1, miR-206, miR-152 y miR-214. Algunos genes apoptóticos tales son blancos potenciales de los microARN regulados a la baja tras la lesión medular, tales como: miR-127, iR-181a, miR-411, miR-34a y miR-384-5p.

Estos hallazgos sugieren que la expresión anormal de los microARN después de una lesión medular traumática puede contribuir a la patogénesis del daño secundario, por lo que podrían ser blancos potenciales para intervenciones terapéuticas tras la lesión medular.

Por su parte, Sahni y su equipo⁹ demostraron que el miR-21 regula de forma negativa la hipertrofia reactiva de los astrocitos en la lesión medular. Sin embargo, no lograron determinar los blancos del miR-21 que pueden afectar el tamaño de estas células, por lo que sugieren la realización de nuevos estudios con este objetivo y para encontrar posibles blancos para intervenciones terapéuticas.

En el estudio de los microARN asociados con la apoptosis, Liu et al.²² demostraron que el aumento de la expresión de Let-7a se acompañó de aumento en la expresión de RAS y MYC a los 10 días de la lesión; sin embargo, a los 31 días la expresión de RAS y MYC regresó a los niveles basales, pese a que la de Let-7a se mantuvo elevada. El aumento en la expresión del miR-16 se asoció con el aumento en la expresión de Bcl-2 (fig. 1).

Por otro lado, se ha demostrado que el ejercicio tras la lesión medular mantiene la masa muscular en los miembros paralizados²⁶, estabiliza los patrones rítmicos de disparo en las motoneuronas espinales²⁷, estimula la plasticidad anatómica y bioquímica en la médula²⁸ y produce aumento de los niveles de factores neurotróficos en el músculo y la médula espinal^{29,30}. Es por esto que Liu et al.²² estudiaron el efecto del ejercicio en la expresión de algunos microARN. Estos autores lograron demostrar que 5 días de ejercicio después de la lesión medular se acompañaron de aumento significativo en la expresión del miR-21, conocido por su efecto antiapoptótico³¹, así como de disminución importante de la expresión del miR-15b. El aumento de la expresión de miR-21 se acompañó de disminución en la expresión de ARN mensajero de PTEN y PDC4. Se sabe que la inhibición de estas proteínas se asocia con la disminución de la apoptosis en células cancerígenas mediante la inhibición de la

PKB²². En relación con la disminución de la expresión de miR-15b, se encontró aumento paradójico en la expresión de Bcl-2 asociado al aumento de Bcl-2, estos autores encontraron disminución significativa en la expresión de ARNm de las caspasas 7 y 9. Finalmente, pese a que no encontraron cambios en la expresión de Let-7a, estos autores demostraron que el ejercicio disminuyó de forma significativa la expresión de RAS. Todos estos cambios en la expresión de los microARN con el ejercicio podrían explicar algunos de sus efectos benéficos.

Recuperación funcional y regeneración

Sehm y su grupo²³ estudiaron los blancos potenciales del miR-196 en relación con la regeneración de la cola en el ajolote. Estos autores mostraron que este microARN actúa directamente en el gen de Pax7 al regular a la baja los niveles de esta proteína, con lo que se afecta la división celular durante la regeneración y se produce un fenotipo con cola pequeña. El mecanismo mediante el cual esta proteína produjo dicho fenotipo fue mediante un asa de retroalimentación con las proteínas BMP4 y Msx1, conocidas por su control en la proliferación celular en la médula espinal.

Díaz Quiroz y su equipo²⁴, después de identificar al miR-125 como un factor importante en la creación de un ambiente que permita la regeneración, probaron el efecto del aumento en los niveles de miR-125b en ratas después de la lesión medular. Para esto, inyectaron un miR-125b sintético en el sitio de la lesión 7 días después del trauma, con lo que demostraron la disminución de los niveles de Sema4D y de la formación de cicatriz glial, así como un efecto positivo en la regeneración con una mejoría significativa de la locomoción en algunos animales.

En su estudio acerca del papel del miR-133b en la recuperación funcional tras la lesión medular, Yu et al.²⁵ demostraron que este microARN es importante en la regeneración de la médula espinal del pez cebra adulto, mediante la reducción en los niveles de la proteína RhoA, una pequeña GTPasa. Se han estudiado los patrones de activación de esta proteína tras la lesión medular, y el papel de su activación en la apoptosis en el sistema nervioso central³². Tanto las proteínas inhibitorias del crecimiento derivadas de la mielina como el factor de necrosis tumoral (TNF) activan directamente a Rho. La p75^{NTR} (receptor de neurotrofina p75) activa a Rho en ausencia de unión a neurotrofina. La inactivación de Rho por C3-05 (antagonista de Rho A) tras la lesión medular que bloquea la elevación de los niveles de la proteína p75^{NTR} e inhibe la apoptosis. La inactivación de Rho con C3-05 previene la apoptosis y estimula la regeneración.

La forma en que el miR-133b produce esta disminución es mediante su interacción directa con el ARN mensajero de la RhoA. Este es un hallazgo importante, ya que se ha demostrado que la inactivación de esta GTPasa resulta en la recuperación rápida de la locomoción así como una recuperación progresiva de la coordinación entre miembros anteriores y posteriores en ratones adultos³³.

Posibles intervenciones terapéuticas

Aún falta explorar más a fondo el papel de los microARN en la lesión medular; sin embargo, existe cada día mayor

evidencia que sugiere que estos microARN representan una nueva clase de blancos terapéuticos³⁴⁻³⁶. El microARN en el sistema nervioso central disminuye los niveles de proteína mediante la regulación postranscripcional^{16,37}. Así, la inhibición de un microARN ligado a una enfermedad particular puede remover el bloqueo de la expresión de una proteína terapéutica. Por el contrario, la administración de un microARN mimético puede estimular una población de microARN endógeno que a su vez reprima un gen perjudicial³⁸. Si se toma ventaja de su pequeño tamaño y el conocimiento actual de la biogénesis del microARN, algunos ARN modificados pueden utilizarse transitoriamente como microARN preprocesados o como oligonucleótidos anti-microARN³⁹.

Los oligonucleótidos anti microARN son oligonucleótidos de una cadena reversa complementarios. Su estabilidad, afinidad de unión y especificidad han sido mejoradas mediante modificaciones químicas. Las más comunes de las modificaciones en oligonucleótidos son los ácidos nucleicos cerrados (LNA por sus siglas en inglés), la modificación 2'-O-metil, y esqueletos de fosforotioato. Los oligonucleótidos con modificación 2'-O-metil han demostrado ser inhibidores efectivos en varias líneas celulares y en neuronas primarias cultivadas⁴⁰⁻⁴². Recientemente, la administración de oligonucleótidos modificados por LNA y por fosforotioato contra el miR-122 aplicados por vía endovenosa a ratones y primates no humanos ha resultado en la disminución duradera y efectiva del colesterol plasmático, sin ninguna toxicidad aparente⁴³. Los oligonucleótidos modificados por LNA contra miR-122 (SPC3649) están actualmente en un ensayo clínico en fase I para la infección por el virus de la hepatitis C y será el primer blanco terapéutico con microARN en humanos⁴⁴.

Los imitadores del microARN son oligonucleótidos pequeños, generalmente de doble cadena, modificados químicamente que pueden ser utilizados para regular a la baja proteínas blanco específicas. La estructura en doble cadena es necesaria para el reconocimiento y unión eficaces al RISC. Una de las cadenas es el microARN maduro, y la cadena complementaria forma un complejo con la secuencia del microARN maduro³⁶. A pesar de que estos imitadores se usan con frecuencia en investigaciones en cultivos, aún no existen datos in vivo que demuestren la eficacia de los imitadores del microARN⁴⁵.

Aún existen muchos retos para el uso de microARN como blancos terapéuticos, a saber: su difícil administración, los posibles efectos en otros sistemas y el asegurar su seguridad. Sin embargo, la estrategia de manipulación de los microARN in vivo para regular procesos patológicos se está convirtiendo en un abordaje terapéutico factible. En un futuro, una mejor comprensión de la biogénesis y la función del microARN promoverá sin duda el desarrollo de terapias basadas en microARN.

Conclusiones

La lesión medular es causa importante de discapacidad, y a la fecha no existe un tratamiento exitoso. Se ha iniciado el estudio de los microARNs en esta patología, con lo que se ha mostrado su importancia en el control de la inflamación, la oxidación, la apoptosis, la proliferación y la regeneración. Es necesario continuar con el estudio de los microARN en

la lesión medular, así como la identificación de sus genes blanco y los mecanismos de señalización que participan en sus efectos neurológicos. Con esto, el objetivo final será el desarrollo de estrategias terapéuticas y diagnósticas eficaces y seguras para los pacientes con lesión medular.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Silva NA, Sousa N, Reis RL, Salgado AJ. From basics to clinical: A comprehensive review on spinal cord injury. *Prog Neurobiol.* 2014;114:25-57.
2. World Health Organization. En: WHO Library Cataloguing in Publication Data. *International Perspectives on Spinal Cord Injury.* Geneva, Switzerland: WHO; 2013.
3. Di Giovanni S, Knoblach SM, Brandoli C, Aden SA, Hoffman EP, Faden AI. Gene profiling in spinal cord injury shows role of cell cycle in neuronal death. *Ann Neurol.* 2003;53:454-68.
4. Nestic O, Svrakic NM, Xu GY, McAdoo D, Westlund KN, Hulsebosh CE, et al. DNA microarray analysis of the contused spinal cord: Effect of NMDA receptor inhibition. *J Neurosci Res.* 2002;68:406-23.
5. Silver J, Miller JH. Regeneration beyond the glial scar. *Nat Rev Neurosci.* 2004;5:146-56.
6. Sofroniew MV. Reactive astrocytes in neural repair and protection. *Neuroscientist.* 2005;11:400-7.
7. Herrmann JE, Imura T, Song B, Qi J, Ao Y, Nguyen TK, et al. STAT3 is a critical regulator of astrogliosis and scar formation after spinal cord injury. *J Neur.* 2008;28:7231-43.
8. Barnabé Heider F, Frisén J. Stem cells for spinal cord repair. *Cell Stem Cell.* 2008;3:16-24.
9. Sahni V, Mukhopadhyay A, Tysseling V, Hebert A, Birch D, Mcguire TL, et al. BMPR1 and BMPR1b signaling exert opposing effects on gliosis after spinal cord injury. *J Neurosci.* 2010;30:1839-55.
10. Beattie MS, Farooqui AA, Bresnahan JC. Review of current evidence for apoptosis after spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 2000;17:915-25.
11. Shuman SL, Bresnahan JC, Beattie MS. Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res.* 1997;50:798-808.
12. Chan CS, Elemento O, Tavazoie S. Revealing posttranscriptional regulatory elements through network-level conservation. *PLoS Comput Biol.* 2005;1:e69.
13. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature.* 2005;433:769-73.
14. Hu JZ, Huang JH, Zeng L, Wang G, Cao M, Lu HB. Anti-apoptotic effect of microRNA-21 after contusion spinal cord injury in rats. *J Neurol.* 2013;30:1349-60.
15. Liu NK, Wang XF, Lu QB, Xu XM. Altered microRNA expression following traumatic spinal cord injury. *Exp Neurol.* 2009;219:424-9.
16. Kosik KS. The neuronal microRNA system. *Nat Rev Neurosci.* 2006;7:911-20.
17. Bilen J, Liu N, Burnett BG, Pittman RN, Bonini NM. MicroRNA pathways modulate polyglutamine-induced neurodegeneration. *Mol Cell.* 2006;24:157-63.
18. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, et al. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *J Exp Med.* 2007;204:1553-8.
19. Ziu M, Fletcher L, Savage JG, Jimenez DF, Digicaylioglu M, Bartanusz V. Spatial and temporal expression levels of

- specific microRNAs in a spinal cord injury mouse model and their relationship to the duration of compression. *Spine J*. 2014;14:353–60.
20. Bhalala O, Pan L, Sahni V, McGuire TL, Gruner K, Tourtellotte WG, et al. microRNA-21 regulates astrocytic response following spinal cord injury. *J Neurosci*. 2012;32:17935–47.
 21. Izumi B, Nakasa T, Tanaka N, Nakanishi K, Kamei N, Yamamoto R, et al. MicroRNA-223 expression in neutrophils in the early phase of secondary damage after spinal cord injury. *Neurosci Lett*. 2011;492:114–8.
 22. Liu G, Keeler BE, Zhukareva V, Houlé JD. Cycling exercise affects the expression of apoptosis-associated microRNAs after spinal cord injury in rats. *Exp Neurol*. 2010;226:200–6.
 23. Sehm T, Sachse C, Frenzel C, Echeverri K. MiR-196 is an essential early-stage regulator of tail regeneration, upstream of key spinal cord Kettering events. *Dev Biol*. 2009;334:468–80.
 24. Diaz Quiroz JF, Tsai E, Coyle M, Sehm T, Echeverri K. Precise control of miR-125b levels is required to create a regeneration-permissive environment after spinal cord injury: A cross-species comparison between salamander and rat. *Dis Model Mech*. 2014;7:601–11.
 25. Yu YM, Gibbs KM, Davila J, Campbell N, Sung S, Todorova TI, et al. MicroRNA miR-133b is essential for functional recovery after spinal cord injury in adult zebrafish. *Eur J Neurosci*. 2011;33:1587–97.
 26. Houle JD, Morris K, Skinner RD, Garcia-Rill E, Peterson CA. Effects of fetal spinal cord tissue transplants and cycling exercise on the soleus muscle in spinalized rats. *Muscle Nerve*. 1999;22:846–56.
 27. Beaumont E, Houlé JD, Peterson CA, Gardiner PF. Passive exercise and fetal spinal cord transplant both help to restore motoneuronal properties after spinal cord transection in rats. *Muscle Nerve*. 2004;29:234–42.
 28. Tillakaratne NJK, Mouria M, Ziv NB, Roy RR, Edgerton VR, Tobin AJ. Increased expression of glutamate decarboxylase (GAD₆₇) in feline lumbar spinal cord after complete thoracic spinal cord transection. *J Neurosci Res*. 2000;60:219–30.
 29. Ying Z, Roy RR, Edgerton VR, Gómez-Pinilla F. Exercise restores levels of neurotrophins and synaptic plasticity following spinal cord injury. *Exp Neurol*. 2005;193:411–9.
 30. Dupont-Versteegden EE, Houlé JD, Dennis RA, Zhang J, Knox M, Wagoner G, et al. Exercise-induced gene expression in soleus muscle is dependent on time after spinal cord injury in rats. *Muscle Nerve*. 2004;29:73–81.
 31. Sayed D, He M, Hong C, Gao S, Rane S, Yang Z, et al. MicroRNA-21 is a downstream effector of AKT that mediates its antiapoptotic effects via suppression of fas ligand. *J Biol Chem*. 2010;285:20281–90.
 32. Dubreuil CI, Winton MJ, McKerracher L. Rho activation patterns after spinal cord injury and the role of activated Rho in apoptosis in the central nervous system. *J Cell Biol*. 2003;162:233–43.
 33. Dergham P, Ellezam B, Essagian C, Avedissian H, Lubell WD, McKerracher L. Rho signaling pathway targeted to promote spinal cord repair. *J Neurosci*. 2002;22:6570–7.
 34. Esau CC, Monia BP. Therapeutic potential for microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59:101–14.
 35. Mirnezami AHF, Pickard K, Zhang L, Primrose JN, Packham G. MicroRNAs: Key players in carcinogenesis and novel therapeutic targets. *Eur J Surg Oncol*. 2009;35:339–47.
 36. Weiler J, Hunziker J, Hall J. Anti-miRNA oligonucleotides (AMOs): Ammunition to target miRNAs implicated in human disease? *Gene Ther*. 2006;13:496–502.
 37. Krichevsky AM. MicroRNA profiling: From dark matter to white matter, or identifying new players in neurobiology. *Scientific World J*. 2007;7:155–66.
 38. Liu NK, Xu XM. MicroRNA in central nervous system trauma and degenerative disorders. *Physiol Genomics*. 2011;43:571–80.
 39. Medina PP, Slack FJ. Inhibiting microRNA function in vivo. *Nat Meth*. 2009;6:37–8.
 40. Meister G, Landthaler M, Dorsett Y, Tuschl T. Sequence-specific inhibition of microRNA- and siRNA-induced RNA silencing. *RNA*. 2004;10:544–50.
 41. Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, MacDonald PE, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature*. 2004;432:226–30.
 42. Schratt GM, Tuebing F, Nigh EA, Kane CG, Sabatini ME, Kiebler M, et al. A brain-specific microRNA regulates dendritic spine development. *Nature*. 2006;439:283–9.
 43. Elmén J, Lindow M, Schütz S, Lawrence M, Petri A, Obad S, et al. LNA-mediated microRNA silencing in non-human primates. *Nature*. 2008;452:896–9.
 44. Santaris Pharma A/S, editores. Miravirsén (SPC3649). A New Treatment Targeting Hepatitis C [monografía en Internet]. Dinamarca: Santaris Pharma A/S; 2011 [consultado 2 Dic 2013]. Disponible em: http://www.santaris.com/sites/default/files/SantarisPharmaAS_Miravirsén_ProfileBackgrounder.11.01.11.pdf
 45. Zhao X, He X, Han X, Yu Y, Ye F, Chen Y, et al. MicroRNA-mediated control of oligodendrocyte differentiation. *Neuron*. 2010;65:612–26.