



## Artículo especial

# ¿Qué son los micro-RNA? ¿Para qué sirven? ¿Qué potenciales beneficios podrían tener en el contexto asistencial?

Ignacio Díaz Carrasco<sup>a</sup>, Agustín Guisado Rasco<sup>a,b</sup> y Antonio Ordoñez Fernández<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Grupo de Investigación Fisiopatología Cardiovascular del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS), Sevilla, España

<sup>b</sup> Area del Corazón, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 20 de enero de 2015

Aceptado el 16 de febrero de 2015

On-line el 25 de marzo de 2015

## Palabras clave:

Micro-RNA

Reperusión cardiopatía isquémica

## RESUMEN

Los micro-RNA son microrreguladores de la expresión génica en una gran variedad de tipos celulares y procesos fisiológicos.

Existen micro-RNA que participan en el daño producido por isquemia/reperusión (I/R) en el corazón, y parece que dichos micro-RNA pueden tener un papel importante en la protección cardiaca frente a infarto. En un modelo *in vitro* de daño por I/R en corazón de ratón, se demostró que el tamaño del infarto después de una isquemia era menor cuando inyectaban al corazón micro-RNA de un corazón previamente tratado con proteínas de choque térmico (Hsp).

El estudio de los mecanismos moleculares mediante los cuales determinados micro-RNA pueden proteger el corazón infartado es un tema interesante y motivo de análisis en muchos institutos de investigación. Los micro-RNA participan en la modulación génica que ocurre en el corazón tras un fenómeno de I/R y son puntos clave en los procesos de muerte celular, apoptosis y, más a largo plazo, fibrosis e hipertrofia, responsables del remodelado cardiaco post-IAM.

Varios micro-RNA tienen un papel muy importante en estos mecanismos protectores por lo que su uso como biomarcador y como herramienta terapéutica abre una gran expectativa clínica.

© 2015 SAC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## What are the micro-RNAs? What are they? What potential benefits could be in the care context?

## A B S T R A C T

MicroRNAs are micro-regulators of gene expression in a variety of cell types and physiological processes. The microRNAs are involved in the damage produced by ischemia/reperfusion (I/R) in the heart, and several evidence indicate that microRNAs could play an important role in cardiac protection and heart failure. Using an *in vitro* model of by I/R in mouse heart, it was shown that heart injection with some microRNAs decreases the size of infarction.

## Keywords:

MicroRNA

Reperfusion ischemic heart disease

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [antorfernan@us.es](mailto:antorfernan@us.es) (A. Ordoñez Fernández).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.carcor.2015.02.002>

1889-898X/© 2015 SAC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

The study of the molecular mechanisms by which certain microRNAs can protect the infarcted heart is an interesting topic and subject of analysis in many research. The microRNAs involved in gene modulation that occurs in the heart after a phenomenon I/R, with key points in the process of cell death, apoptosis, and longer term fibrosis and hypertrophy, responsible for cardiac remodeling post-MI.

Several microRNAs play an important role in these protective mechanisms so its use as a biomarker and as a therapeutic tool opens a large clinical expectation.

© 2015 SAC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

## Micro-RNA en el sistema cardiovascular

Los micro-RNA son microrreguladores de la expresión génica en una gran variedad de tipos celulares y procesos fisiológicos.

Actualmente los micro-RNA han alcanzado una gran relevancia clínica debido a su cada vez más importante papel en la regulación de multitud de procesos tanto fisiológicos como patológicos. De hecho, cada vez hay más evidencias de que procesos tan importantes como la muerte y la supervivencia celular, o la división y diferenciación están regulados por micro-RNA. Distintas áreas de conocimiento como la biología del desarrollo o la oncología están destinando grandes esfuerzos en investigar sobre micro-RNA y, en este sentido, los micro-RNA también están adquiriendo gran importancia en el área cardiovascular. Muestra de ello es la gran cantidad de artículos científicos generados en el último año sobre el papel de determinados micro-RNA en algunos procesos cardiovasculares.

Los micro-RNA juegan un papel central en el desarrollo embrionario del corazón. Originalmente aparecieron una serie de investigaciones que estudiaban el impacto de mutaciones sobre la enzima procesadora de micro-RNA, Dicer, para el correcto desarrollo del corazón. La pérdida de Dicer lleva a la muerte prematura de los embriones de ratón sobre el día 7, debido a un mal desarrollo cardiovascular, lo que da idea de su importancia.

Con relación a este hallazgo, se han descrito múltiples micro-RNA implicados en diferentes aspectos del desarrollo cardiovascular. Por ejemplo miR-1, miR-133a y miR-133b son micro-RNA específicos del sistema muscular, y son imprescindibles para la diferenciación del músculo cardiaco. También son importantes para otras poblaciones celulares del corazón, como son los fibroblastos o las células de músculo liso vascular. Así, podemos destacar la importancia de miR-126 en el proceso de angiogénesis durante el desarrollo del corazón y que miR-143/-145 juegan un papel clave en la proliferación y diferenciación de las células de músculo liso vascular.

Muchos de estos micro-RNA han sido validados en humanos en estudios con cardiomiocitos derivados de células madre embrionarias, donde se ha confirmado la importancia de miR-1 y miR-133. Además, se han descubierto nuevos micro-RNA tan importantes como miR-208, implicado en la reactivación de programas de transcripción fetales y asociado a numerosas enfermedades adultas, y de miR-499, que controla la expresión de genes relacionados con la función contráctil de los cardiomiocitos.

Pero antes de continuar profundizando en el papel de los micro-RNA en la fisiopatología cardiovascular, veamos qué son y cómo funcionan estas pequeñas y novedosas moléculas.

## ¿Qué son los micro-RNA? Biología de los micro-RNA

Los micro-RNA son pequeños RNA de alrededor de 22 nucleótidos que no codifican para proteína. Estas pequeñas moléculas de RNA están codificadas en el genoma celular y son transcritas a RNA en el núcleo, dando lugar a los llamados pre-micro-RNA, los cuales son procesados y exportados al citoplasma donde, ya como micro-RNA maduros, realizan su función. Los micro-RNA regulan la expresión génica a nivel postranscripcional mediante unión con la región 3' UTR del RNA mensajero (mRNA) de sus genes diana. Es decir, los micro-RNA pueden disminuir la expresión de determinadas proteínas, aquellas con las que existe cierta complementariedad en unas regiones específicas de su secuencia. Para ello, los micro-RNA maduros se integran en una compleja maquinaria llamada RISC-Dicer, guiándola hacia las secuencias de mRNA diana, e induciendo su degradación o inhibiendo la traducción a proteína.

En humanos hay descritos hasta el momento entre 1.200 y 1.500 micro-RNA, los cuales se estima que puedan estar regulando hasta una tercera parte de los genes del organismo. Un micro-RNA determinado puede tener varios genes diana y, a su vez, cada gen puede ser diana de varios micro-RNA, formando circuitos de regulación de alta complejidad. Para profundizar en la biología de los micro-RNA recomendamos la lectura de la revisión de Bartel<sup>1</sup>.

## Micro-RNA en las enfermedades cardiovasculares

Además de la importancia en la fisiología cardiovascular, los micro-RNA están siendo cada vez asociados a mayor cantidad de enfermedades cardiovasculares, la mayor causa de muerte en el mundo.

Por su importancia vamos a centrarnos en la cardiopatía isquémica en su expresión como infarto agudo de miocardio (IAM) y en su posible evolución hacia la insuficiencia cardiaca.

Recientes estudios han demostrado que hay micro-RNA que participan en el daño producido por isquemia/reperfusión (I/R) en el corazón, y parece que dichos micro-RNA pueden tener un papel importante en la protección cardiaca frente a un infarto. Los primeros indicios tuvieron lugar al encontrar

múltiples micro-RNA desregulados en enfermedades cardiovasculares humanas de origen coronario y al observar como ratones *knock-out* para *mir-126* eran más susceptibles al daño producido por infarto agudo de miocardio. En un modelo *in vitro* de daño por I/R en corazón de ratón, se demostró que el tamaño del infarto después de una isquemia era menor cuando inyectaban en el corazón micro-RNA de un corazón previamente tratado con proteínas de choque térmico (Hsp). Posteriormente se demostró que *miR-320* está involucrado en la regulación del daño producido por I/R a través de la proteína Hsp-20. En otro estudio se describió que la expresión de *miR-1*, *miR-21*, *miR-24* y *miR-199* están reguladas por preconditionamiento isquémico y, además, la inyección de los micro-RNA producidos en un corazón preconditionado protege el corazón del daño por isquemia en un modelo de corazón aislado y perfundido en Langendorff.

Recientemente varios trabajos han profundizado en los mecanismos moleculares mediante los cuales determinados micro-RNA pueden proteger el corazón infartado. Los micro-RNA participan en la modulación génica que ocurre en el corazón tras un fenómeno de I/R, y son puntos clave en los procesos de muerte celular, apoptosis y, más a largo plazo, fibrosis e hipertrofia, responsables del remodelado cardíaco post-IAM.

Varios micro-RNA tienen un papel muy importante en estos mecanismos protectores: *miR-210* puede mejorar la función cardíaca después de un IAM, inhibiendo la apoptosis celular en el miocardio. Por otro lado, la sobreexpresión de *mir-499* en ratones modificados protege del daño por isquemia al reducir la fragmentación de las mitocondrias de los cardiomiocitos y mejorar la supervivencia del miocardio<sup>2</sup>.

### Perspectivas terapéuticas de los micro-RNA

Una de las características de los micro-RNA que los hacen tan interesantes es la posibilidad de modificar de forma muy específica su expresión, lo que los hace una prometedora herramienta terapéutica. Numerosos modelos preclínicos han mostrado que la sobreexpresión o la inhibición de micro-RNA pueden alterar las respuestas patológicas en las enfermedades cardiovasculares. Los antagomir o anti-miRNA son oligonucleótidos antisentido que se unen a un micro-RNA concreto, consiguiendo una inactivación muy específica y eficiente. Por el otro lado, pueden utilizarse oligonucleótidos análogos a los micro-RNA (micro-RNA mimics) o pre-miRNA que realicen la misma acción que los endógenos.

En un estudio donde se utilizó un sistema terapéutico basado en la administración intravenosa de anti-miRNA para modular los micro-RNA cardíacos *in vivo* se consiguió reducir la expresión de *miR-208* en el corazón y mejorar la función cardíaca de animales tratados mediante fallo cardíaco. Este trabajo ha incrementado las expectativas terapéuticas de los micro-RNA, ya que este sistema de modulación de los micro-RNA *in vivo* es potencialmente aplicable en expresión de *miR-208* en el corazón, mejorando la función cardíaca de animales tratados mediante fallo cardíaco. Este trabajo ha incrementado las expectativas terapéuticas de los micro-RNA, ya que este sistema de modulación de los micro-RNA *in vivo* es potencialmente aplicable en cardiología humana. De hecho y

aunque no es en el área cardiovascular, ya hay un estudio clínico en fase II con anti-miR-122 para tratar la infección con hepatitis C.

Y aunque son necesarios nuevos ensayos clínicos, hay ya una serie de trabajos muy prometedores en modelos animales basados en la inhibición de micro-RNA endógenos por antagomir. De hecho, este sistema de inhibición de micro-RNA ha demostrado eficacia en diferentes contextos experimentales, como son reducir la hipertrofia y remodelado cardíaco causante de insuficiencia cardíaca, reducir la muerte celular y la fibrosis tras un IAM, así como reducir la arteriosclerosis, reestenosis e incluso la dislipidemia<sup>3</sup> (tabla 1).

### Los micro-RNA como biomarcadores de elección

El hecho de que se encontraran micro-RNA en sangre unido a su alta estabilidad en este fluido y que fueran relativamente sencillos de cuantificar mediante técnicas de biología molecular tan extendidas como la PCR a tiempo real ha supuesto un hito en la búsqueda de biomarcadores de diferentes tipos de enfermedad. Actualmente los micro-RNA son unos de los nuevos biomarcadores con mayor potencial para su implementación clínica en un futuro próximo.

La presencia de micro-RNA circulantes puede explicarse desde diferentes perspectivas, siendo las más aceptadas que sean parte de un mecanismo de comunicación intercelular, o que sean el resultado de la liberación del contenido celular al torrente sanguíneo por alguna lesión o daño celular (fig. 1).

Además, el conocimiento de que determinados micro-RNA se expresan específica y exclusivamente en un tejido, como por ejemplo el miocardio, o bien solamente en diferentes condiciones como un IAM y que esto pueda ser medido o detectado en muestras circulantes ha llevado a una intensa búsqueda de micro-RNA biomarcadores de enfermedades y así como evaluar su valor pronóstico para el desarrollo de la misma (tabla 2).

### Micro-RNA marcadores en enfermedad cardiovascular

Se han publicado varios trabajos que proponen micro-RNA candidatos con potencial valor como biomarcadores de IAM y enfermedad coronaria, con algunos resultados prometedores; *miR-208* y *miR-499*, micro-RNA específicamente expresados en corazón, parecen ser claros marcadores de IAM, ya que se encuentran niveles muy aumentados en las primeras horas tras el evento. Los niveles de *miR-208* son indetectables en los pacientes sin IAM y se pueden detectar en el 100% de los pacientes con IAM a las 4 h del inicio del cuadro, con un área bajo la curva de 0,94. En otro estudio, los niveles de *miR-499* estaban elevados a las 3 h del dolor en el 93% de los pacientes con IAM, con un área bajo la curva de 0,97.

En un estudio prospectivo internacional y multicéntrico se analizaron 6 micro-RNA (*miR-133a*, *miR-208b*, *miR-223*, *miR-320a*, *miR-451* y *miR-499*) en 1.155 pacientes atendidos por dolor torácico. El 19% fue diagnosticado de IAM. Los niveles

**Tabla 1 – Experimentos terapéuticos con micro-RNA**

miRNA	Aproximación experimental	Especies	Efecto terapéutico
miR-15	Anti-miRNA modificado: locked nucleic acid (LNA)	Ratón y cerdo	Reducción del tamaño del infarto y el remodelado cardiaco posterior a IAM
miR-24	AntagomiR modificado: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón	Reducción del tamaño del infarto, mejora de la vasculatura y los parámetros hemodinámicos tras daño isquémico
miR-320	AntagomiR	Ratón	Reducción del tamaño del infarto mediante regulación de Hsp20
miR-29b	miRNA mimics modificados: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón	Reducción de la fibrosis tras IAM
miR-590 y miR199	Transfección con miR-590-3p y miR-199a-3p humanos	Ratón	Reducción del tamaño del infarto y mejora de la función cardiaca por estimulación de la proliferación de cardiomiocitos, disminución del remodelado cardiaco, hipertrofia y fibrosis
miR-208a	Anti-miRNA modificado LNA	Ratas Dahl	Reducción del remodelado y mejora de la función cardiaca
miR-212 y miR-132	ratón knock-out miR-212/132	Ratón	Protección frente al remodelado adverso inducido por sobrecarga vía TAC
miR-133	AntagomiR-133	Ratón	Inducción de una hipertrofia cardiaca sostenida
miR-21	AntagomiR modificado: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón	Reducción de la fibrosis y mejora de la función cardiaca
miR-21	Anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Fallo en el bloqueo del remodelado ventricular en respuesta al estrés
miR-328	AntagomiR modificado: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón y perro	Rescate de la fibrilación y remodelado auricular
miR-145	Sobreexpresión con adenovirus	Rata	Regulación del fenotipo de las células de músculo liso vascular en la formación de la lesión en la neointima
miR-145	Sobreexpresión con lentivirus	Ratón	Selección de fenotipo contractil en células de músculo liso vascular y reducción del tamaño de la placa de ateroma
miR-21	AntagomiR modificado: 2'-O-metil	Rata	Disminución de la proliferación y aumento de la muerte por apoptosis de las células de músculo liso vascular
miR-33	Anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Elevación del colesterol HDL
miR-33	Anti-miRNA	Primates no humanos	Alteración de los índices de colesterol HDL y VLDL
miR-122	Anti-miRNA modificado: 2'-O-methoxyethyl phosphorothioate	Ratón	Disminución de los niveles de colesterol HDL y LDL en plasma
miR-122	Anti-miRNA modificado: LNA	Primates no humanos	Disminución de los niveles de colesterol total en plasma
miR-126	Cuerpos apoptóticos enriquecidos en miR-126	Ratón	Estabilización y disminución del tamaño de las lesiones arterioscleróticas
miR-29b	LNA-anti-miR-29b	Ratón	Aumento de la expresión de colágeno y reducción de aneurisma aórtico abdominal
miR-29b	LNA-anti-miR-29b	Ratón	Aumento de la matriz extracelular e inhibición de la progresión de aneurisma aórtico inducido por angiotensina II
miR-92a	AntagomiR modificado: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón	Crecimiento de vasos y recuperación funcional del tejido isquémico
miR-23 y miR-27	Anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Inhibición de la angiogénesis en un modelo de neovascularización
miR-24	AntagomiR modificado: 2'-O-metil y 3'-colesterol	Ratón	Disminución de la apoptosis del endotelio y mejora de la vascularización después de IAM
miR-155	Anti-miRNA modificado: LNA	Ratón	Disminución de la infiltración y activación de linfocitos T con reducción del daño miocárdico

de miR-208b, miR-499 y miR-320a fueron significativamente mayores en estos pacientes. El mejor rendimiento diagnóstico se observó con el miR-208b, si bien menor que el de la troponina T y troponina T ultrasensible. Asimismo, si bien los niveles de miR-208b fueron mayores en los pacientes que murieron en los primeros 30 días, el valor de predicción fue bajo, y ninguno de los micro-RNA predijo la mortalidad a largo plazo. En otro estudio con 359 pacientes con IAM, los niveles de miR-328 y miR-134 se asociaron con mayor mortalidad y desarrollo de insuficiencia cardiaca a los 6 meses.

Además, se ha observado que los niveles de miR-133a y miR-208a están elevados en pacientes con enfermedad coronaria estable frente a controles sanos, mientras que los niveles de miRNA-126, miRNA-17, miRNA-92a y miRNA-155 están reducidos. Además, el cociente entre miRNA-135 y miR-147 podría ser un marcador de enfermedad coronaria.

Por otro lado miR-1 y miR-133a, que son micro-RNA altamente expresados en células de músculo liso vascular, parecen encontrarse elevados en sangre en pacientes con enfermedad cardiovascular de origen isquémico.

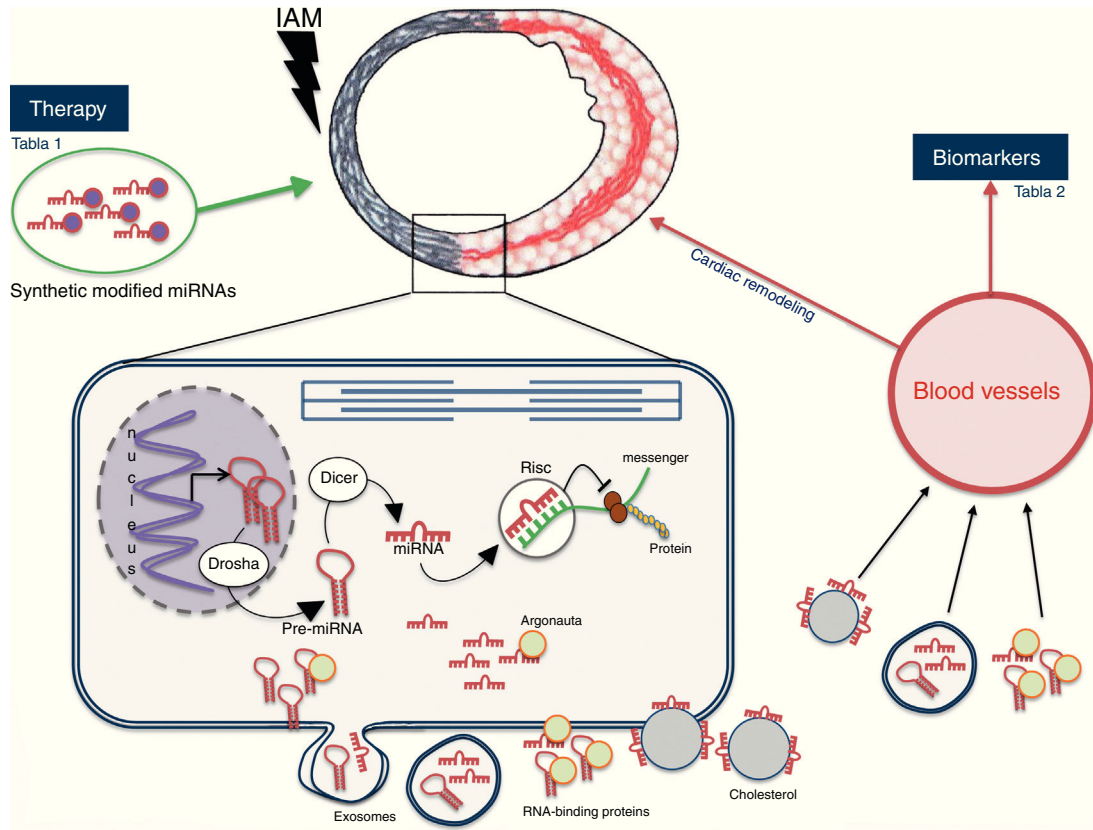


Figura 1 – Síntesis y liberación de microRNAs al torrente sanguíneo tras un infarto agudo de miocardio.

Tabla 2 – Micro-RNA como marcadores en enfermedad cardiovascular

Enfermedad	miRNA	Efecto	Aplicación
IAM	miR-208	Aumentados	Diagnóstico
	miR-208a	Aumentados	Diagnóstico
	miR-208b	Aumentados	Diagnóstico
	miR-1	Aumentados	Diagnóstico
	miR-133	Aumentados	Diagnóstico
	miR-499	Aumentados	Diagnóstico
	miR-30a	Aumentados	Diagnóstico
	miR-29a	Aumentados	Pronóstico. Riesgo de disfunción ventricular
	miR-101, miR-150	Reducidos	Pronóstico. Riesgo de disfunción ventricular tras IAM
	miR-16, miR-27a, miR-194, miR-34a, miR-126, miR-328, miR-134	Aumentado Reducidos Aumentados	Diagnóstico Pronóstico. Mayor mortalidad e IC a los 6 meses
Insuficiencia cardíaca	miR-652	Aumentados	Pronóstico del síndrome coronario agudo
	miR-423-5p, miR-18B	Aumentados	Diagnóstico
	miR-499	Aumentados	Diagnóstico. Aumenta en IAM, miocarditis, insuficiencia cardíaca aguda
	miR-103, miR-142-3p, miR-30b, miR-342-3p	Reducidos	Diagnóstico
	miR-454, miR-500	Reducidos	Diagnóstico de disfunción diastólica
	miR-1246	Aumentados	Diagnóstico de disfunción diastólica
	miR-320a, miR-22	Aumentados	Pronóstico

En cuanto a la capacidad para predecir la disfunción ventricular tras un IAM, se han estudiado varios micro-RNA. Así, se ha obtenido relación entre niveles elevados de miR-29a, miR-208b, miR-499 o miR-150. En un estudio con 150 pacientes se determinó al alta tras un IAM los niveles de miR-16, miR-27a, miR-101 y miR-150, así como el NT-pro-BNP. Los niveles bajos de miR-150 o miR-101, así como los altos de miR-16 o miR-27a se asociaron con un mayor riesgo de desarrollar disfunción ventricular en el seguimiento, con una mejora en el valor predictivo respecto a un modelo de parámetros clínicos que incluía el NT-pro-BNP.

En un estudio se observó que 6 miRNA (miR423-5p, miR-18b, miR-129-5p, miR-1254, miR-675 y miR-622) estaban elevados en pacientes con insuficiencia cardiaca. De ellos, el miR-423-5p fue el más específico para insuficiencia cardiaca, con un área bajo la curva de 0,91.

A pesar de todos los avances y de algunos resultados alentadores sobre el uso de micro-RNA circulantes como futuros biomarcadores, todavía es necesario resolver algunas cuestiones. La extracción de miRNA extracelulares no es una tarea fácil, ya que se encuentran en cantidades relativamente bajas en la sangre y la falta de normalizadores endógenos fiables dificulta la cuantificación específica de micro-RNA circulantes. De momento, no existe un consenso en cuanto a la metodología a seguir, la obtención y preparación de las muestras ni el método de cuantificación y normalización de los resultados. Por tanto, es necesaria la estandarización de protocolos para el desarrollo de micro-RNA circulantes como nuevos biomarcadores<sup>4,5</sup>.

---

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

---

## Financiación

Red de Investigación Cardiovascular RIC RD120042/0041 FIS isciiii. PI12/00941 Consejería de Innovación CTS 1965. MINECO BFU2013-45564-C2-2-P. Sociedad Andaluza de Cardiología. Convocatoria 2014.

---

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. Bartel DP. *microRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function.* Cell. 2004;116:281-97.
2. Maegdefessel L. *The emerging role of microRNAs in cardiovascular disease.* J Intern Med. 2014.
3. Condorelli G, Latronico MV, Cavarretta E. *microRNAs in cardiovascular diseases: Current knowledge and the road ahead.* J Am Coll Cardiol. 2014;63: 2177-87.
4. Sayed AS, Xia K, Salma U, Yang T, Peng J. *Diagnosis, prognosis and therapeutic role of circulating miRNAs in cardiovascular diseases.* Heart Lung Circ. 2014;23: 503-10.
5. Devaux Y, McCann GP, Wagner DR, Squire IB. *Prognostic microRNAs after AMI.* Circ Res. 2013;113: e46-7.