

## MicroRNAs como herramienta potencial para el diagnóstico del mesotelioma pleural maligno

Luis Vicente Gayosso-Gómez,\* ‡ Luis Carlos Salinas-Silva,\* Gabriela Zárraga-Granados,\*  
Eric Gustavo Ramírez-Salazar,§ Blanca Ortiz-Quintero\* ✉

\* Unidad de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas

‡ Sección de Estudios de Posgrado e Investigación, ESM, IPN.

§ Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM.

Trabajo recibido: 25-IX-2012; aceptado: 13-XI-2012

**RESUMEN.** El mesotelioma pleural maligno es un tumor extremadamente agresivo, difícil de diagnosticar, que se origina en el mesotelio de la membrana pleural y que comúnmente se asocia a la exposición al asbesto. Los síntomas se manifiestan después de 20-40 años de la exposición al carcinógeno, pero posterior al diagnóstico presenta una sobrevivencia de 9-12 meses. La prueba diagnóstica confirmatoria del mesotelioma pleural maligno o «estándar de oro» es la tinción por inmunohistoquímica para marcadores tisulares; pero al no existir un marcador 100% certero del diagnóstico, éste suele ser difícil y complejo. Aunado a lo anterior, el mesotelioma pleural maligno es difícil de distinguir de carcinomas de origen epitelial que invaden la pleura, tal como el adenocarcinoma pulmonar. Los miRNAs son RNAs de doble hebra que regulan los mecanismos celulares esenciales a nivel postranscripcional, son tejido-específico y su expresión no depende de la edad o raza del individuo. Estudios recientes han demostrado que la expresión de los miRNAs es aberrante en diversos tumores y que podría utilizarse como biomarcador de diagnóstico, revelando una herramienta diagnóstica alternativa. La presente revisión se enfoca en los estudios de los miRNAs tisulares como posibles biomarcadores de diagnóstico del mesotelioma pleural maligno, así como en las características biológicas de los miRNAs.

**Palabras clave:** Mesotelioma pleural maligno, diagnóstico, microRNAs.

**ABSTRACT.** Malignant pleural mesothelioma is an extremely aggressive tumor arising from pleural mesothelial cells and is generally attributable to asbestos exposure. Symptoms of malignant pleural mesothelioma appear 20-40 years after exposure to the carcinogen, but after detection it is rapidly fatal, with the median survival time of 9-12 months after diagnosis. The «golden standard» diagnosis of malignant pleural mesothelioma relies in a panel of immunohistochemical stains, but no single immunohistochemical stain marker is 100% diagnostic, resulting in a difficult and time-consuming process. In addition, MPM can be difficult to distinguish from peripheral lung adenocarcinoma and metastatic epithelial cancers, in the absence of accurate markers. MicroRNAs (miRNAs) are double-stranded RNA that regulates post-transcriptional gene expression in essential cellular mechanisms. MicroRNA expression is tissue-specific and it seems not to depend on individual's age or race. Recent studies have shown that miRNAs are aberrantly expressed in several solid tumors and the identification of the aberrant signature expression may be alternative diagnostic biomarkers for cancers. This review describes the studies focus on miRNAs as potential diagnostic biomarkers in malignant pleural mesothelioma, and the biological characteristics of miRNAs.

**Key words:** Malignant pleural mesothelioma, diagnosis, microRNAs.

### INTRODUCCIÓN

El mesotelioma pleural maligno (MPM) es un tumor poco común, pero extremadamente agresivo que se origina en las células mesoteliales de la membrana pleural.<sup>1-4</sup> La enfermedad se asocia a la exposición al asbesto en el 80% de los casos y los síntomas se manifiestan después de un período prolongado de latencia posterior a dicha exposición (20-40 años).<sup>2-4</sup> Una vez que la enfermedad es diagnosticada, es rápidamente fatal con una sobrevivencia menor a 1 año.<sup>4,5</sup> La Organización Mundial de la Salud reportó 92,252 muertes mundiales

en el período de 1994-2008,<sup>6</sup> pero se sugiere que las cifras reportadas están subestimadas por la falta de registros confiables del diagnóstico de la enfermedad.<sup>7</sup> Se predice, además, un incremento de la incidencia mundial del mesotelioma basado en la alta exposición al asbesto.<sup>4</sup> Aunado a lo anterior, el diagnóstico certero del MPM suele ser difícil y complejo, por lo que quizás muchos casos no son reportados por la incapacidad de alcanzar el diagnóstico verdadero.

En México, no existen aún leyes que regulen la producción de asbesto ni la exposición de trabajadores al mismo, por lo que se predice que el MPM

será un problema grave de Salud Pública en años venideros.<sup>8</sup>

Tres subtipos histológicos del MPM han sido descritos: el epiteloide, el sarcomatoide y el bifásico (mezcla). El epiteloide es el más frecuente, con alrededor del 50-60% de los casos reportados de MPM.<sup>4</sup> El MPM epiteloide es casi siempre difícil de distinguir de carcinomas de origen epitelial que invaden la pleura, tal como el adenocarcinoma pulmonar, lo cual dificulta aún más su diagnóstico.<sup>9,10</sup> En conjunto, el diagnóstico del MPM se considera difícil y complejo debido a que requiere de una biopsia o tejido de resección quirúrgica adecuados; también a la carencia de marcadores tisulares 100% diagnósticos, a la frecuente confusión con carcinomas epiteliales que invaden pleura y a la sintomatología clínica no específica de la enfermedad.

Se considera que la prueba confirmatoria del MPM o «estándar de oro» es la tinción por inmunohistoquímica; pero no existe un marcador conocido que sea 100% diagnóstico, por lo que es necesario utilizar una combinación de anticuerpos que reconocen varios marcadores que sean positivos y negativos en las muestras de tejido.<sup>9,10</sup> Típicamente, el MPM es positivo para la calretinina, citokeratina 5/6 y negativo para el TTF-1 (del inglés *thyroid transcription factor-1*) y CEA (del inglés *carcinoembryonic antigen*).<sup>9,10</sup> Sin embargo, cuando no ocurre la tinción típica se requiere del uso de otro panel de anticuerpos para antígenos adicionales. Debido a lo anterior, este estudio puede ser un proceso relativamente lento que depende de la disponibilidad del panel de anticuerpos en el laboratorio y de la experiencia del patólogo. La guía para el diagnóstico del MPM emitida por el Grupo Internacional de Interés en MPM recomienda que el diagnóstico se base en la interpretación conjunta con los datos clínicos, radiológicos y patológicos (inmunohistoquímica) para incrementar la posibilidad de alcanzar el diagnóstico certero de la enfermedad.<sup>10</sup>

En los últimos años, los miRNAs han sido objeto de estudios intensos como parte de un mecanismo nuevo de regulación genética a nivel postranscripcional, donde el mecanismo de acción es el bloqueo específico de la traducción de RNA mensajeros blanco.<sup>11,12</sup> Lo que incrementó aún más el interés en los miRNAs fueron las evidencias de que podrían utilizarse como biomarcadores para el diagnóstico de diversos tipos de tumores sólidos como cáncer de colon, cáncer de pulmón y cáncer de mama, entre otros.<sup>13-19</sup> Se descubrió que la expresión de los miRNAs mostraba alteraciones en el tejido de dichas patologías neoplásicas, que podían distinguirse del patrón de expresión normal del tejido sano. Aunado a lo anterior, varios estudios reportaron que la expresión de miRNAs tisulares parece no depender

de la edad y raza del individuo.<sup>14-16</sup> Estudios donde se manipulan experimentalmente los niveles de expresión de ciertos miRNAs (ya sea sobreexpresión o inhibición de la expresión) han indicado que dicha manipulación induce cambios en las propiedades tumorales de líneas celulares de origen neoplásico,<sup>20-22</sup> lo que señala una posible asociación de los niveles de expresión alterados de los miRNAs y el desarrollo de la neoplasia. En conjunto, los datos señalan a los miRNAs tisulares como biomarcadores potenciales de diagnóstico. Su expresión alterada podría utilizarse para detectar la presencia de la neoplasia, independientemente si dicha alteración es parte de la patogénesis de la neoplasia o el resultado de la presencia de la misma.

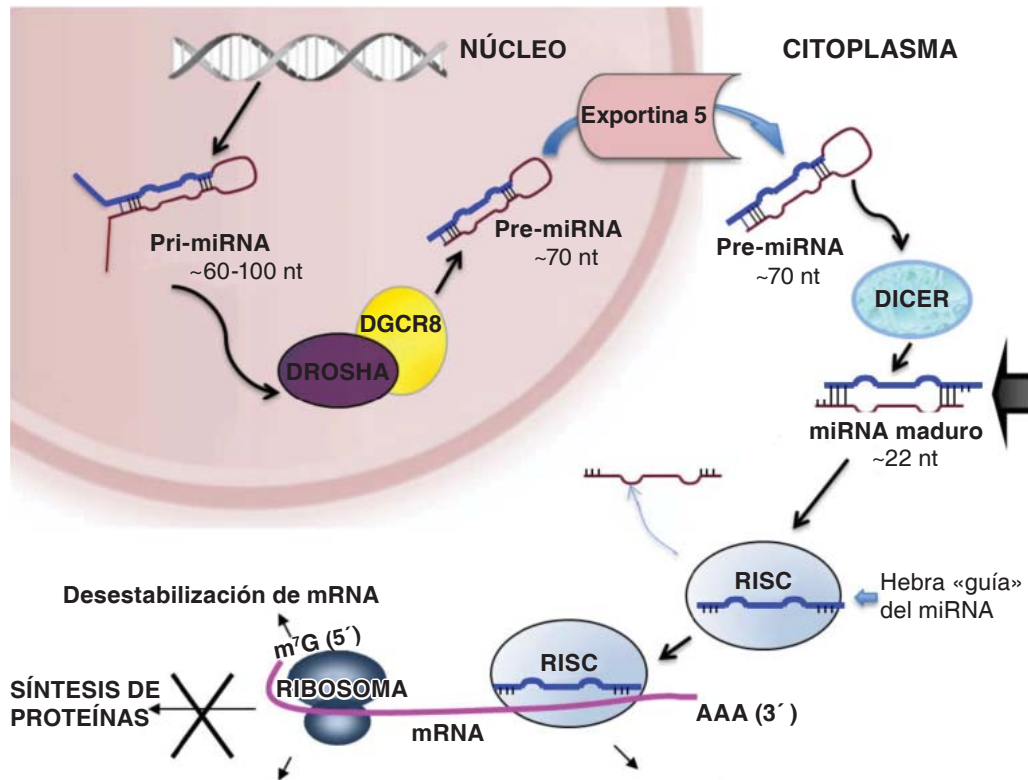
Hoy existen estudios enfocados al análisis de los miRNAs en MPM, aunque no son tan abundantes y no están a la escala de los estudios realizados para identificar miRNAs como biomarcadores de diagnóstico en otros tipos de neoplasias, como en el caso del cáncer de mama o de pulmón. Lo anterior se atribuye a los recientes estudios en MPM (2010 en adelante); ya se han reportado evidencias del potencial de los miRNAs tisulares como biomarcadores para esta enfermedad. Antes de continuar con la descripción de dichos estudios, es necesario conocer las características biológicas de los miRNAs y sus mecanismos de acción conocidos a la fecha.

### MicroRNAs

Los miRNAs son RNAs pequeños de doble hebra de ~22 nucleótidos que regulan la expresión genética a nivel postranscripcional mediante el bloqueo de la traducción de RNA mensajeros blancos.<sup>11</sup> Los miRNAs se han encontrado en todo organismo analizado a la fecha y regulan procesos celulares esenciales como la diferenciación, proliferación y apoptosis.<sup>11,23,24</sup> Es importante señalar que estos procesos celulares están desregulados en varios procesos neoplásicos.<sup>20,25,26</sup> Los miRNAs son tejido-específicos y son considerados como parte de un mecanismo biológico de regulación genética recién descubierto.

En agosto de 2012 se reportaron 25,141 secuencias maduras de miRNAs en 193 especies de organismos, siendo 2,042 secuencias correspondientes al *Homo sapiens* (versión miRBase 19, <http://www.mirbase.org/>). Este último registró un incremento de 3,625 secuencias maduras nuevas de miRNAs descubiertas en un período menor de un año (versión anterior miRBase 18, noviembre de 2011), denotando lo rápido del desarrollo del campo de investigación de los miRNAs.

La biogénesis de los miRNAs se origina en el núcleo celular, donde los genes que codifican para los



**Figura 1.** Esquema simplificado de la biogénesis y mecanismo de acción de los miRNAs. En el núcleo celular se produce precursor miRNA primario o pri-miRNA (60-100 nucleótidos o nt) con una estructura de «*hairpin*» o «*rizo*», que es escindido por el complejo Drosha-DGCR8 para formar el precursor pre-miRNA (~70 nt). El pre-miRNA es transportado al citoplasma a través de la exportin-5-RanGTP, donde se escinde por la Rnasa III llamada Dicer para formar el miRNA maduro de ~22 nt. El miRNA maduro se une al complejo enzimático miRISC donde la hebra «guía» permanece y la otra es eliminada. La hebra «guía» reconoce secuencias parcialmente complementarias en RNA mensajeros blancos e inhibe su traducción mediante «represión de la traducción», «desestabilización del mRNA» y/o «degradación del mRNA».

mismos son transcritos por la RNA polimerasa II para dar lugar a precursores primarios nucleares conocidos como pri-miRNAs (figura 1).<sup>11,27,28</sup> Los pri-miRNAs presentan un tamaño de 60-100 nucleótidos (nt) y una estructura conocida como «*hairpin*», esta última considerada como una estructura típica de la familia de los miRNAs. La estructura de «*hairpin*» o «*rizo*» en el idioma español, se refiere al pliegue o rizo que se forma en el extremo de una hebra de nucleótidos que al plegarse sobre sí misma, produce una doble hebra unida por las secuencias repetidas de forma invertida que son complementarias entre sí.<sup>11,27,28</sup> Los pri-miRNAs son procesados enzimáticamente en el núcleo por el complejo proteico Drosha-DGCR8,<sup>29</sup> el cual escinde al pri-miRNA para producir otro precursor de tamaño menor llamado pre-miRNA (~70 nt). Estos pre-miRNAs son transportados al citoplasma a través de la exportin-5-RanGTP.<sup>30</sup> En el citoplasma los pre-miRNAs son escindidos por la RNasa de tipo III DICER, lo cual produce finalmente los miRNAs maduros de

~22 nt.<sup>31</sup> Los miRNAs maduros realizan su función siendo primero reclutados por el complejo proteico llamado RISC o miRISC, a través de su componente proteico llamado Argonauta (AGO).<sup>32</sup> La doble hebra del miRNA maduro se disocia y una hebra única es retenida (hebra guía) en el complejo miRISC.<sup>33</sup> Dicha hebra guía reconoce el extremo 3' del RNA mensajero (mRNA) blanco que presenta una secuencia parcialmente complementaria a la porción de la hebra guía llamada «semilla».<sup>34</sup> Lo anterior induce que la traducción del mRNA blanco sea bloqueada mediante tres posibles mecanismos generales conocidos como «represión de la traducción», «desestabilización del mRNA» y «degradación del mRNA». El primero involucra la pérdida de subunidades de ribosomas durante la fase de elongación de la traducción;<sup>35</sup> el segundo involucra la eliminación de la cola de Poli-A del mRNA y su consecuente degradación por dicha pérdida;<sup>36</sup> y el último involucra la destrucción de los mRNAs blancos mediante una degradación catalizada por AGO.<sup>33</sup>

Un miRNA puede presentar varios mRNAs blancos potenciales, dependiendo de la complementariedad de los mismos. Por lo anterior, es posible hacer un análisis predictivo mediante bioinformática de los blancos probables de ciertos miRNAs, conociendo la secuencia «semilla» de estos últimos. Ejemplos de estos programas son el TargetScan y PicTar (<http://www.targetscan.org/>, <http://pictar.bio.nyu.edu/>). Además, se puede consultar libremente la información recopilada acerca de los blancos ya conocidos de los miRNAs, los mecanismos biológicos involucrados y las secuencias de los miRNAs en la base de datos `miRBase`. El `miRBase` es el depósito central de información de secuencias de miRNAs, a la vez una fuente de recursos para su análisis y puede ser consultada libremente en el sitio <http://www.mirbase.org/> o <http://microrna.sanger.ac.uk/>.

### *MiRNAs en el diagnóstico del MPM*

Balatti *et al.*,<sup>37</sup> demostraron que es posible distinguir diferencias en el patrón de expresión de miRNAs en líneas celulares de MPM. Estos autores analizaron cinco líneas celulares de corta supervivencia provenientes del mesotelioma pleural normal *versus* cinco líneas celulares provenientes de pacientes diagnosticados con MPM (4 de ellas de origen epitelial), usando la técnica de microarreglos (Agilent Technologies, Human miRNA microarray G4470A). Los hallazgos indicaron 14 miRNAs sobreexpresados y 8 miRNAs de baja expresión en las líneas de MPM (con significancia estadística). De los anteriores, la expresión de cuatro miRNAs fue verificada cuantitativamente mediante PCR en tiempo real con transcripción reversa (RT-qPCR), confirmando la sobreexpresión de hsa-miR-17-5p, miR-20a, y miR-92, y la baja expresión hsa-miR-497. Estos autores refieren que algunos de los miRNAs sobreexpresados pertenecen a la familia o «cluster» de miRNAs llamada miR-17-92, cuyos miembros han sido asociados con actividad represora de oncogenes. Sin embargo, ninguna evidencia experimental de tal asociación en el MPM fue desarrollada en este trabajo, dejando abierto este campo de estudio. Por otro lado, estos hallazgos no fueron trasladados a estudios en tejido para identificar posibles biomarcadores de diagnóstico.

En 2010, Busacca *et al.*,<sup>38</sup> analizaron el perfil de expresión de miRNAs de dos líneas celulares de MPM (MPP-89 y REN, ambas de origen epitelial) *versus* una línea celular inmortalizada de mesotelioma normal (HMC-TERT) e intentaron trasladar sus hallazgos a lo que podría ocurrir a nivel de tejido. Los resultados indicaron 65 miRNAs alterados en las líneas celulares de mesotelioma *versus* mesotelioma, utilizando la técnica de microarreglos (miRCURY LNA microarray kit, Exiqon), siendo 10 de ellos corroborados cuantitativamente por

RT-qPCR. De los 10 miRNAs analizados, cuatro estaban sobreexpresados en las líneas celulares de MPM (hsa-miR-17-3p, -17-5p, -18a y -20a) y cuatro con baja expresión (hsa-miR-21, -29a, -30b y -106a), coincidiendo dos de ellos con los datos reportados por Balatti (hsa-miR-17-5p y -20a). En la búsqueda de posibles biomarcadores de MPM, los autores analizaron los 10 miRNAs confirmados por RT-qPCR en muestras de tejido de pacientes diagnosticados con MPM (n = 24, de los tres subtipos histológicos), también por la técnica de RT-qPCR. Este último análisis indicó que los tres diferentes subtipos histológicos de MPM podrían presentar perfiles de miRNAs específicos para cada uno.

La estrategia de análisis de este estudio presenta la desventaja de utilizar sólo dos líneas celulares de mesotelioma y una línea celular inmortalizada de mesotelioma como prueba de tamizaje, lo que confiere una inherente baja representatividad de los datos obtenidos al tratar de trasladarlos a muestras de tejido. Además del número escaso de líneas celulares usadas, existe la posibilidad de que las condiciones de cultivo particulares del laboratorio y el número de pases podrían favorecer cambios en la fisiología celular que podrían alterar la expresión original de miRNAs en dichas células. Debido a lo anterior, información valiosa podría perderse al trasladar los datos obtenidos a nivel de tejido en la búsqueda de biomarcadores de diagnóstico.

En el 2010, Gee *et al.*,<sup>39</sup> realizaron un estudio del perfil de miRNAs directamente en muestras de tejido de pacientes diagnosticados con MPM (n = 15), diagnosticados con adenocarcinoma pulmonar (n = 10) y de tejido sano adyacente (n = 4), utilizando la técnica de microarreglos (Affymetrix). Los datos obtenidos fueron validados cuantitativamente por RT-qPCR en 100 muestras de MPM y 32 muestras de adenocarcinoma pulmonar (AD). Estos autores reportaron 7 miRNAs de muy baja expresión en MPM que pueden discriminar el MPM del AD con una especificidad y sensibilidad mayores al 80% (hsa-miR-200c, -200b, -141, -429, -203 y -205), aportando las primeras evidencias de biomarcadores potenciales de diagnóstico diferencial para estos dos tipos de tumores que son casi siempre difíciles de diferenciar.

A su vez, Benjamin *et al.*,<sup>40</sup> realizaron un estudio para identificar biomarcadores que pudieran distinguir al MPM de otros carcinomas de origen epitelial (que pueden invadir la pleura), en adición al adenocarcinoma pulmonar. Estos autores analizaron primero, 7 muestras de MPM *versus* 97 muestras de carcinomas epiteliales de varios órganos de origen (pulmón, vejiga, mama, riñón, entre otros), utilizando la técnica de microarreglos (Nexterion Slide E, Schott, Mainz, Germany). Los resultados indicaron que la expresión de hsa-miR-



193a-3p estaba elevada en MPM *versus* carcinomas en general, el cual, hsa-miR-200c presentaba baja expresión en el MPM *versus* carcinoma de origen renal; y hsa-miR-192 presentaba baja expresión en MPM *versus* carcinomas no renales. Cabe mencionar que el hsa-miR-200c también fue reportado por Gee *et al.*,<sup>39</sup> como de baja expresión en el MPM *versus* AD. Estos resultados fueron validados en un grupo independiente de muestras de 22 MPM y 43 carcinomas (muestras nuevas agregadas: 15 MPM y 36 carcinomas), mediante RT-qPCR. Se analizó la sensibilidad y especificidad del uso de los tres miRNAs en conjunto, en un grupo independiente de muestras consistentes de 32 MPM y 113 carcinomas (muestras nuevas agregadas: 11 MPM y 77 carcinomas), resultando una sensibilidad del 97% y una especificidad del 96%. Asimismo, los autores realizaron un ensayo independiente de validación ciego con 63 muestras (todas nuevas) obtenidas de pleura o pulmón, 14 de ellas correspondientes a MPM y 49 a diversos carcinomas metastásicos. Los resultados indicaron que el diagnóstico de MPM *versus* carcinomas presentó una sensibilidad del 100% y especificidad del 94%.

Este es el primer estudio que ofrece una herramienta diagnóstica cuantitativa (RT-qPCR) para discriminar el MPM *versus* otros carcinomas epiteliales que pueden invadir pleura, adicionalmente al adenocarcinoma pulmonar. Aun cuando el ensayo diagnóstico cuantitativo ofrece una gran ventaja sobre las pruebas diagnósticas subjetivas como la inmunohistoquímica, lo más recomendable sería utilizar esta herramienta como un apoyo a dicha prueba diagnóstica o «estándar de oro». Lo anterior cumpliría con el propósito adicional de validar el nuevo ensayo en un número mayor de muestras y a continuación, en una población abierta en paralelo al uso de la prueba diagnóstica «de oro».

Por otro lado, dos estudios reportaron el perfil de expresión de miRNAs tisulares de MPM *versus* el tejido sano únicamente. En el primero, Santarelli *et al.*,<sup>41</sup> analizaron la expresión de 88 miRNAs asociados a procesos cancerosos mediante la técnica de PCRArray (Array MAH-102A, SABiosciences), utilizando 10 muestras de MPM y 1 muestra de tejido mesotelial sano proveniente de una mezcla de 5 individuos. Tres miRNAs de baja expresión en MPM (hsa-miR-335, -126 y -32) fueron analizados por RT-qPCR en 27 muestras de MPM *versus* el correspondiente tejido sano adyacente. Los datos indicaron que sólo el hsa-miR-126 presentó una diferencia significativa ( $p = 0.02$ ), independientemente del estadio del MPM. Cabe hacer notar que el análisis está limitado a 88 miRNAs, a diferencia de los estudios ya mencionados.

En el caso de Guled *et al.*,<sup>42</sup> los autores utilizaron la técnica de microarreglos (Agilent) para analizar

17 muestras de MPM *versus* RNA total de pericardio humano normal (Ambion) como control. Aunque la técnica de microarreglos permite el análisis de un mayor número de miRNAs (aproximadamente 1500 miRNAs conocidos), este estudio presenta la desventaja de usar un único control normal y de no verificar cuantitativamente los datos de los microarreglos. Con las reservas correspondientes a las condiciones de este estudio, los datos reportados indican 12 miRNAs sobreexpresados (let-7b\*, hsa-miR-1228\*, -195\*, -30b\*, -32\*, miR-345, -483-3p, -584, -595, -615-3p, y -885-3p) y nueve con baja o nula expresión en MPM (let-7e\*, hsa-miR-144\*, -203, -340\*, -34a\*, -423, -582, -7-1\*, y -9).

Recién han iniciado los estudios sobre MPM en comparación con otras neoplasias y la mayoría de ellos se encuentran en fase exploratoria o preclínica. Para encontrar uno o varios biomarcadores de diagnóstico que puedan usarse en la práctica clínica, es todavía necesario continuar con la evaluación científica y sistemática de los posibles candidatos. También es necesario resaltar que los resultados reportados son heterogéneos, con sólo dos pares de estudios que coinciden en 1-2 tipos de miRNAs reportados como alterados en el MPM. Lo anterior puede atribuirse a la falta de homogeneidad en las estrategias en los estudios de tamizaje en varios aspectos como el uso de líneas celulares y posteriormente tejido, el número limitado de líneas celulares o muestras de tejido e incluso el uso de diferentes plataformas de microarreglos.

Para realizar una primera prueba de tamizaje, es recomendable utilizar muestras de tejido en lugar de líneas celulares debido a la mayor representatividad de los hallazgos obtenidos directamente del tejido. El número de muestras a utilizar en esta etapa con frecuencia depende del costo de la prueba de tamizaje y la disponibilidad de las muestras siendo, por lo general, poco probable utilizar un número estadísticamente representativo de la población analizada en esta etapa del estudio. Empero, esto puede compensarse en las etapas de validación, donde sólo se analizan los miRNAs candidatos (descubiertos en la prueba de tamizaje) en un número mayor de muestras. Con respecto a las diferentes plataformas comerciales de microarreglos, se han reportado evidencias de variaciones significativas en el número y tipo de miRNAs identificados e incluso en el nivel de expresión.<sup>43,44</sup> Lo anterior podría provocar que ciertas diferencias en los niveles de expresión de miRNAs entre las muestras analizadas no sean detectadas.

Es importante enfatizar que la validez de los datos reportados en los diferentes estudios no es calificada como errónea, ya que los hallazgos son muy valiosos en cada estrategia individual de estudio; pero es probable

que presenten una heterogeneidad en la capacidad de detección de las diferencias significativas en los niveles de expresión de los miRNAs estudiados. Es recomendable, entonces, la validación independiente y cuantitativa de los datos reportados y la homogenización de las estrategias usadas.

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La dificultad del diagnóstico certero del MPM conduce a la búsqueda de alternativas que puedan ser utilizadas como herramientas diagnósticas de apoyo a la prueba «estándar de oro» (inmunohistoquímica). Debido a la naturaleza subjetiva de dicha prueba, una herramienta cuantitativa sería de gran utilidad ya que permitiría una determinación homogénea y objetiva de biomarcadores de diagnóstico.

Los miRNAs han sido blanco de múltiples estudios desde que se descubrieron evidencias de que podrían ser utilizados como biomarcadores de diagnóstico en diferentes tipos de tumores sólidos, pero sólo ahora se han realizado estudios enfocados al MPM. Los hallazgos reportados en dichos estudios son prometedores; no obstante, es necesario la homogenización de las estrategias usadas y la validación independiente de los datos reportados.

La mayoría de los estudios se encuentran en etapas iniciales con respecto al objetivo final que es el uso en la práctica clínica. El potencial que presentan los miRNAs en el diagnóstico cuantitativo es enorme y ofrece, además, una herramienta de apoyo al método de diagnóstico difícil y complejo del MPM. Lo anterior podría justificar los esfuerzos de evaluación y validación de los miRNAs como biomarcadores de diagnóstico. A este respecto, Pepe *et al.*,<sup>45</sup> propusieron una excelente guía de cinco pasos para el desarrollo, evaluación y validación de biomarcadores que puede ser consultada en dicha referencia.

## REFERENCIAS

1. Kaufman AJ, Pass HI. *Current concepts in malignant pleural mesothelioma*. Expert Rev Anticancer Ther 2008;8:293-303.
2. Bianchi C, Bianchi T. *Malignant mesothelioma: global incidence and relationship with asbestos*. Ind Health 2007;45:379-387.
3. Roggli VL, Sharma A, Butnor KJ, Sporn T, Vollmer RT. *Malignant mesothelioma and occupational exposure to asbestos: a clinicopathological correlation of 1445 cases*. Ultrastruct Pathol 2002;26:55-65.
4. Robinson BW, Lake RA. *Advances in malignant mesothelioma*. N Engl J Med 2005;353:1591-1603.
5. Ray M, Kindler HL. *Malignant pleural mesothelioma an update on biomarkers and treatment*. Chest 2009;136:888-896.
6. Delgermaa V, Takahashi K, Park EK, Le GV, Hara T, Sorahan T. *Global mesothelioma deaths reported to the World Health Organization between 1994 and 2008*. Bull World Health Organ 2011;89:716-724.
7. Park EK, Takahashi K, Hoshuyama T, et al. *Global magnitude of reported and unreported mesothelioma*. Environ Health Perspect 2011;119:514-518.
8. Aguilar-Madrid G, Robles-Pérez E, Juárez-Pérez CA, Alvarado-Caballero I, Rico-Méndez FG, Javier KG. *Case-control study of pleural mesothelioma in workers with social security in Mexico*. Am J Ind Med 2010;53:241-251.
9. Addis B, Roche H. *Problems in mesothelioma diagnosis*. Histopathology 2009;54:55-68.
10. Husain AN, Colby TV, Ordóñez NG, et al. *Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: a consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group*. Arch Pathol Lab Med 2009;133:1317-1331.
11. Carthew RW, Sontheimer EJ. *Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs*. Cell 2009;136:642-655.
12. Ortiz-Quintero B. *RNA interferente: from origins to a novel tool for gene silencing*. Rev Invest Clin 2009;61:412-427.
13. Calin GA, Croce CM. *MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale*. Cancer Res 2006;66:7390-7394.
14. Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ. *MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma*. JAMA 2008; 299: 425-436.
15. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, et al. *Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis*. Cancer Cell 2006;9:189-198.
16. Patnaik SK, Kannisto E, Knudsen S, Yendamuri S. *Evaluation of microRNA expression profiles that may predict recurrence of localized stage I non-small cell lung cancer after surgical resection*. Cancer Res 2010;70:36-45.
17. Zhou X, Marian C, Makambi KH. *MicroRNA-9 as potential biomarker for breast cancer local recurrence and tumor estrogen receptor status*. PloS One 2012;7:e39011.
18. Dedes KJ, Natrajan R, Lambros MB. *Down-regulation of the miRNA master regulators Drosha and Dicer is associated with specific subgroups of breast cancer*. Eur J Cancer 2011;47:138-150.
19. Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, et al. *MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis*. JAMA 2007;297:1901-1908.
20. Wu H, Zhu S, Mo YY. *Suppression of cell growth and invasion by miR-205 in breast cancer*. Cell Res 2009;19:439-448.
21. Asangani IA, Rasheed SA, Nikolova DA, et al. *MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer*. Oncogene 2008;27:2128-2136.

22. Zhang X, Liu S, Hu T, Liu S, He Y, Sun S. *Up-regulated microRNA-143 transcribed by nuclear factor kappa B enhances hepatocarcinoma metastasis by repressing fibronectin expression*. Hepatology 2009;50:490-499.
23. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. *The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans*. Nature 2000;403:901-906.
24. Brennecke J, Hipfner DR, Stark A, Russell RB, Cohen SM. *Bantam encodes a developmentally regulated microRNA that controls cell proliferation and regulates the proapoptotic gene hid in Drosophila*. Cell 2003;113:25-36.
25. Sato M, Shames DS, Gazdar AF, Minna JD. *A translational view of the molecular pathogenesis of lung cancer*. J Thorac Oncol 2007;2:327-343.
26. Salk JJ, Horwitz MS. *Passenger mutations as a marker of clonal cell lineages in emerging neoplasia*. Semin Cancer Biol 2010;20:294-303.
27. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP. *An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in Caenorhabditis elegans*. Science 2001;294:858-862.
28. Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. *MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization*. EMBO J 2002;21:4663-4670.
29. Han J, Lee Y, Yeom KH, et al. *Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex*. Cell 2006;125:887-901.
30. Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. *Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs*. RNA 2004;10:185-191.
31. Provost P, Dishart D, Doucet J, Frendewey D, Samuelsson B, Radmark O. *Ribonuclease activity and RNA binding of recombinant human Dicer*. EMBO J 2002;21:5864-5874.
32. Azuma-Mukai A, Oguri H, Mituyama T, et al. *Characterization of endogenous human Argonautes and their miRNA partners in RNA silencing*. Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:7964-7969.
33. Zeng Y, Yi R, Cullen BR. *MicroRNAs and small interfering RNAs can inhibit mRNA expression by similar mechanisms*. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:9779-9784.
34. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. *Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets*. Cell 2005;120:15-20.
35. Wang B, Yanez A, Novina CD. *MicroRNA-repressed mRNAs contain 40S but not 60S components*. Proc Natl Acad Sci 2008;105:5343-5348.
36. Giraldez AJ, Mishima Y, Rihel J, et al. *Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs*. Science 2006;312:75-79.
37. Balatti V, Maniero S, Ferracin M, et al. *MicroRNAs dysregulation in human malignant pleural mesothelioma*. J Thorac Oncol 2011;6:844-851.
38. Sara Busacca, Germano S, De Cecco L, et al. *MicroRNA signature of malignant mesothelioma with potential diagnostic and prognostic implications*. Am J Respir Cell Mol Biol 2010;42:312-319.
39. Gee GV, Koestler DC, Christensen BC, et al. *Downregulated microRNAs in the differential diagnosis of malignant pleural mesothelioma*. Int J Cancer 2010;127:2859-2869.
40. Benjamin H, Lebanony D, Rosenwald S, et al. *A diagnostic assay based on microRNA expression accurately identifies malignant pleural mesothelioma*. J Mol Diagn 2010;12:771-779.
41. Santarelli L, Strafella E, Staffolani S, et al. *Association of MiR-126 with soluble mesothelin-related peptides, a marker for malignant mesothelioma*. PLoS One 2011;6:18232.
42. Guled M, Lahti L, Lindholm PM, et al. *CDKN2A, NF2, and JUN are dysregulated among other genes by miRNAs in malignant mesothelioma -A miRNA microarray analysis*. Genes Chromosomes Cancer 2009;48:615-623.
43. Pradervand S, Weber J, Lemoine F, et al. *Concordance among digital gene expression, microarrays, and qPCR when measuring differential expression of microRNAs*. Biotechniques 2010;48:219-222.
44. Sato F, Tsuchiya S, Terasawa K, Tsujimoto G. *Intra-platform repeatability and inter-platform comparability of microRNA microarray technology*. PLoS One 2009;4:5540.
45. Pepe MS, Etzioni R, Feng Z, et al. *Phases of biomarker development for early detection of cancer*. J Natl Cancer Inst 2001;93:1054-1061.

✉ **Correspondencia:**

Dra. Blanca Ortiz-Quintero  
Unidad de Investigación, Instituto Nacional de  
Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.  
Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, 14080,  
México, D.F.  
Tel: (52)(55) 54871705  
Correo electrónico: boq@iner.gob.mx

Los autores declaran no tener conflictos de interés.