

Los microRNA: nuevos biomarcadores en cáncer de mama

César López-Camarillo,* Miguel A Fonseca-Sánchez,** Horacio Astudillo-de la Vega,***
Erika Ruiz-García,**** Jorge A Guadarrama-Orozco,**** Ernesto Sánchez-Forgach,****
David E Muñoz-Gonzalez,***** Laurence A Marchat**

RESUMEN

Los RNA pequeños no codificantes o microRNA (miRNA) funcionan como reguladores negativos de la expresión génica. Diversos reportes indican que la expresión de algunos miRNA se encuentra alterada en distintos tipos de cáncer, tratándose ahora de correlacionar su expresión con factores clínicos, pronósticos y la respuesta a las terapias. Los miRNA son una familia de pequeños RNA monocatenarios no codificantes de 21-25 nucleótidos que se relacionan, pero son diferentes, a los RNA interferentes. Los miRNA reprimen la expresión génica al unirse a la región 3' no traducida (UTR, del inglés *untranslated region*) de un RNA mensajero (RNAm) blanco. Los miRNA son codificados en diversas regiones a lo largo de todo el genoma humano en *loci* que previamente se consideraban sin función. Se cree que los miRNA se originaron como una defensa del hospedero contra el material genético extraño, como los virus RNA y elementos de transposición. Estimaciones del número total de genes que codifican los miRNA en humano se calculan en más de 1,000 distintos *loci*. Los miRNA son sintetizados por la RNA polimerasa II, produciendo un transcripto largo precursor. Durante la transcripción se forman regiones que hacen una horquilla mediante apareamiento de secuencias complementarias, generando así un miRNA primario (pri-miRNA) bicatenario. La estructura secundaria de tallo-burbuja del pri-miRNA es reconocida y procesada por la enzima Drosha, la cual posee actividad de RNasa tipo III, generando precursores de 70-100 nucleótidos llamados miRNA precursores (pre-miRNA).

ABSTRACT

Small non-coding RNAs or microRNAs (miRNAs) function as negative regulators of gene expression. Several reports indicate that expression of some miRNAs is altered in cancers; and it is now being correlated with clinical factors, prognosis and response to therapy. MiRNAs are a family of small single-stranded non-coding RNAs of 21-25 nucleotides that are related but differ from the interfering RNAs. The miRNAs repress gene expression by binding to the 3'-untranslated region (UTR) of a target messenger RNA (mRNA). The miRNAs are encoded in various regions throughout the human genome in loci previously considered without a function. MiRNAs are believed to originate as a host defense against foreign genetic material such as RNA viruses and transposable elements. Estimates of the total number of genes that encode miRNAs in humans are estimated at more than 1,000 different loci. The miRNAs are synthesized by RNA polymerase II, producing a long precursor. During transcription, regions forming a hairpin pairing of complementary sequences by generating a double-stranded primary miRNA (pri-miRNA) are formed. The bubble-stem secondary structure of the pri-miRNA is recognized and processed by the enzyme Drosha, which has RNase III-like activity, generating precursors of 70-100 nucleotides called miRNA precursors (pre-miRNAs). Several reports show that the differential expression of miRNAs may have potential diagnostic and prognostic value in various cancers.

* Laboratorio de Oncogenómica y Proteómica del Cáncer, Programa de Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, México, DF.
** Programa de Biomedicina Molecular y Biotecnología, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, Instituto Politécnico Nacional, México, DF.
*** Laboratory of Translational Cancer Research and Cellular Therapy, Oncology Hospital, «Siglo XXI» Medical Center, Mexico City.
**** Laboratorio de Medicina Traslacional del Instituto Nacional de Cancerología, México, DF.
***** Unidad de Investigación, Mastológica «Lomas», México, DF, México.
***** Departamento de Ginecología Oncológica del Instituto Nacional de Cancerología, México, DF.

Diversos reportes muestran que la expresión diferencial de miRNA puede tener potencial valor diagnóstico y pronóstico en diversos tipos de cáncer.

Palabras clave: MicroRNAs, cáncer de mama, biomarcadores, metastamiRs.

Key words: MicroRNAs, breast cancer, biomarkers, metastamiRs.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los distintos tipos de neoplasias, el cáncer de mama es actualmente el cáncer con mayor incidencia y mortalidad en la población femenina tanto en nuestro país como a nivel mundial.^{1,2} Recientemente, los RNA pequeños no codificantes, en particular los microRNA (miRNA), han adquirido gran relevancia biológica debido a su función como reguladores negativos de la expresión génica. Diversos reportes indican que la expresión de algunos de los miRNA se encuentra alterada en distintos tipos de cáncer, en los cuales su expresión aberrante correlaciona frecuentemente con factores clínicos y pronósticos, así como con el estadio, el grado de invasividad y la respuesta a las terapias.³

LOS miRNA SON NUEVOS REGULADORES DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA

Los miRNA son una familia de pequeños RNA monocatenarios no codificantes de 21-25 nucleótidos que se relacionan, pero son diferentes, a los RNA interferentes. Los miRNA reprimen la expresión génica al unirse directamente a la región 3' no traducida (UTR, del inglés *untranslated region*) de un RNA mensajero (RNAm) blanco e inducir la degradación o inhibición de la traducción del transcripto de manera específica. Los miRNA son codificados en diversas regiones a lo largo de todo el genoma humano en *loci* que previamente se consideraban sin función. Se cree que los miRNA se originaron como una defensa del hospedero contra el material genético extraño, como los virus de RNA y elementos de transposición. Los miRNA están ampliamente representados en la escala evolutiva, ya que han sido identificados en vertebrados, artrópodos, plantas y organismos unicelulares. Estimaciones del número total de genes que codifican los miRNA en humano calculan más de 1,000 distintos *loci*.⁴ De manera interesante, se considera que un solo miRNA puede influir en la producción de al

menos 200 proteínas distintas al ser capaz de unirse de manera específica a diversos transcriptos blancos al mismo tiempo. Dado el número actual de miRNA caracterizados y las predicciones bioinformáticas de los potenciales transcriptos blancos, se considera que cerca de una tercera parte de todos los genes humanos puede estar regulada a nivel postranscripcional por acción de los miRNA.⁵ De acuerdo con la potencialidad de los miRNA para regular la expresión de múltiples genes celulares, no es ninguna sorpresa que los miRNA desempeñen un papel importante en diversos procesos biológicos fundamentales, como el desarrollo, diferenciación, proliferación, crecimiento, apoptosis, respuesta al estrés, metabolismo y la secreción de insulina y hormonas, entre otros.⁶

BIOSÍNTESIS DE miRNA

Los genes que codifican a los miRNA se localizan en diferentes regiones del genoma y su transcripción puede estar regulada de manera independiente por promotores únicos, como en el caso del miR-132a. Sin embargo, la mayoría de los genes que codifican para los miRNA están presentes en los intrones y en regiones intergénicas. Cuando se encuentran localizados en los intrones y tienen la misma orientación que el gen en el que residen, pueden ser cotranscritos como parte del RNAm del gen hospedero. En algunos casos, los miRNA se traslanan o están integrados dentro de los exones de los transcriptos y pueden encontrarse también en las regiones 5' o 3' no traducidas. El resto de los genes de miRNA que se encuentran dentro de regiones intergénicas están posicionados en grupos o *clusters*, por lo que son transcriptos como un RNAm policistrónico a partir de un promotor común.⁷

Los miRNA son sintetizados por la RNA polimerasa II, que inicialmente produce un transcripto largo precursor. Durante la transcripción, se forman regiones que tienen la capacidad de formar una horquilla mediante apareamiento de secuencias complementarias, generando así un miRNA primario (pri-miRNA)

bicatenario. Estos pri-miRNA son producidos a partir de los intrones después de que éstos han sido separados mediante el proceso de corte y empalme (*splicing*) del RNAm hospedero, o alternativamente, son procesados directamente a partir de un RNAm hospedero por el complejo microprocesador conformado por la enzima Drosha y la proteína DGCR8, sin intervención de la maquinaria de *splicing*.⁸ Los pri-miRNA poseen una estructura de CAP en su extremo 5' UTR y son poliadenilados en su extremo 3' UTR, tal como ocurre con los RNAm celulares.⁹ La estructura secundaria de tallo-burbuja del pri-miRNA es reconocida y procesada por la enzima Drosha, la cual posee actividad de RNasa tipo III, generando precursores de 70-100 nucleótidos llamados miRNA precursores (pre-miRNA). El pre-miRNA es una secuencia que se conforma de una estructura tallo-burbuja con una prolongación de dos nucleótidos en su extremo 3', a la cual se le atribuye la función de indicar cuál es la cadena guía y señalar la presencia de un RNA de doble cadena como elemento celular propio. Además, esta estructura funciona como un motivo de reconocimiento por la exportina 5, la cual interviene directamente en el transporte del pri-miRNA del núcleo al citoplasma en un proceso dependiente de Ran-GTP.¹⁰ Una vez en el citoplasma, el pre-miRNA es procesado por DICER, otra enzima del tipo RNasa III, que en conjunto con la proteína TRBP, recorta por fuera de la horquilla y genera un RNA de doble cadena imperfecto denominado miRNA/miRNA*. Posteriormente, TRBP recluta a la endonucleasa Argonauta 2 (AGO2) al complejo miRNA/miRNA*-DICER y forma el complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC, por sus siglas en inglés).¹¹ La cadena complementaria del dúplex miRNA/miRNA* es liberada y degradada por AGO2.¹² La proteína AGO2 guía al miRNA a la región 3' UTR del RNAm blanco, donde se une de manera específica mediante complementariedad de la secuencia. Si la complementariedad del miRNA con la secuencia del transcripto es cercana al 100% se reclutarán las proteínas de desadenilación para iniciar la degradación del RNAm. De manera alternativa, si la complementariedad del miRNA con su RNAm blanco es menor al 100%, se inhibirá la traducción del transcripto. En ambos casos, los RNAm asociados a los miRNA pueden ser secuestrados como complejos RNA-proteínas en estructuras discretas denominadas *foci* citoplásmicos o cuerpos

de procesamiento (*P-bodies*), donde los transcriptos pueden ser degradados o almacenados.¹³ (Figura 1).

USO DE LOS MI RNA PARA LA CLASIFICACIÓN Y PRONÓSTICO DEL CÁNCER

Diversos reportes muestran que la expresión diferencial de miRNA puede tener potencial valor diagnóstico y pronóstico en diversos tipos de cáncer. La existencia de perfiles de expresión únicos de miRNA en los tumores y subtipos histológicos es fundamental debido, en gran medida, a la expresión específica de tejido de los miRNA, lo cual constituye un complemento útil en la clasificación de los tumores. Mediante análisis global de la expresión de miRNA, Lu y colaboradores clasificaron 12 de 17 carcinomas mamarios pobremente diferenciados.¹⁴ Por otra parte, hay indicios de que los miRNA se pueden utilizar para establecer el pronóstico de los pacientes con cáncer. Por ejemplo, la expresión reducida de let-7 y la alta expresión de miR-155 en cáncer de pulmón humano se asociaron con una baja supervivencia de los pacientes, por lo que estos miRNA podrían utilizarse para identificar a aquellos pacientes que requieran un mayor seguimiento y terapia adyuvante.¹⁵ Finalmente, debido a que los miRNA son expresados de manera diferencial entre los tejidos normales y cancerosos, la caracterización de los perfiles de expresión global de los miRNA puede aplicarse para diferenciar entre las lesiones premalignas y malignas en diversos tipos de cáncer. Además de que los miRNA pueden ser utilizados como marcadores tumorales, también pueden ser aplicados en la predicción del comportamiento biológico y clínico del tumor; por ejemplo, la invasión hacia los ganglios linfáticos o la metástasis a distancia, así como el riesgo de recaída.¹⁶

MI RNAs Y CÁNCER DE MAMA

A la fecha, se han reportado diversos estudios que identifican miRNA regulados diferencialmente entre el tumor y el tejido mamario normal, que sugieren su uso potencial como clasificadores de la enfermedad y herramientas de pronóstico en este campo. En su análisis de 76 tumores de mama y 34 especímenes normales, Lorio y su grupo¹⁷ identificaron 29 miRNA que fueron expresados diferencialmente en el tejido del cáncer de mama en comparación con el normal, más un conjunto de 15 miRNA que podrían discrimi-

nar correctamente entre el tumor y el tejido mamario normal. Además, reportaron la expresión de miRNA correlacionados con características patológicas tales como la expresión del receptor de estrógenos y progesterona (miR-30), el estadio tumoral (miR-213 y miR-203) y la expresión diferencial de varias isoformas de let-7, que asociaron con la expresión del receptor de progesterona (let-7c) y metástasis en los ganglios linfáticos (let-7f-1, let-7a-3, let-7a-2). Posteriormente, Mattie y colegas¹⁸ identificaron conjuntos de miRNA

asociados con el estatus de expresión de RE, RP y Her2. De manera significativa, se registró coincidencia entre los miRNA identificados en ambos estudios. En otras investigaciones realizadas por Lowery,¹⁹ se encontró que en cáncer de mama precoz, los niveles de expresión de miR-195 y miR-154 correlacionan negativamente con la presencia del RE. Blenkiron, en el 2007,²⁰ realizó el análisis de la expresión de miRNA en 93 tumores primarios de mama humanos, encontrando que existen miRNA expresados dife-

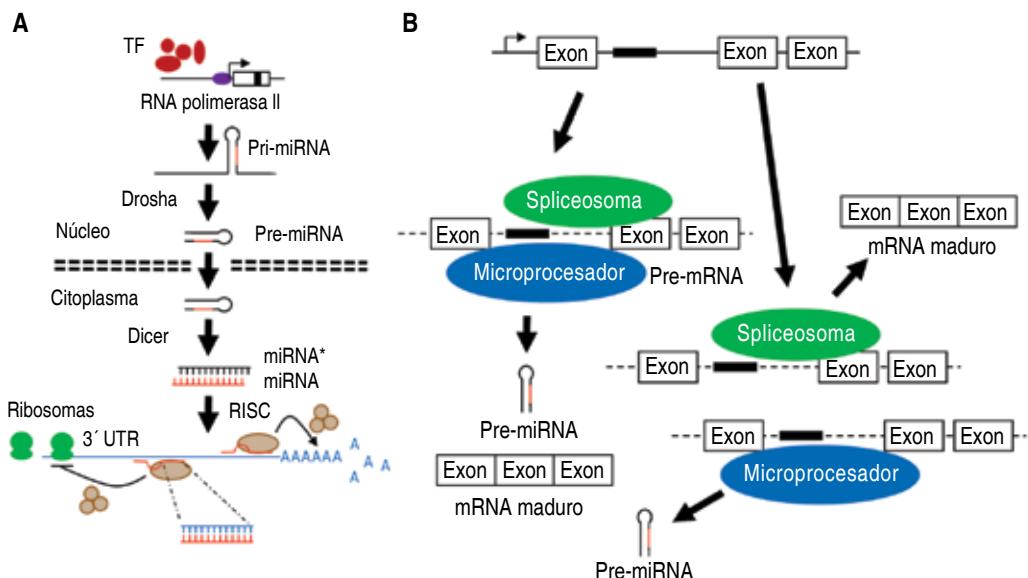


Figura 1. Biogénesis de los miRNA. **(A)** Los pri-miRNA son transcritos por la RNA polimerasa II y pueden contener CAP y ser poliadenilados. Los pri-miRNA son procesados por Drosha, una enzima RNasa III y convertidos a pre-. Se caracterizan por tener una estructura dúplex imperfecta. Los pre-miRNA son transportados del núcleo al citoplasma por la exportina 5 y RAN-GTP. En el citoplasma, los pre-miRNA son transformados por Dicer, otra enzima del tipo RNasa III, generando la estructura híbrida miRNA/miRNA*. La unión de estos dúplex de RNA a proteínas como la Argonauta 2, libera el miRNA*. El miRNA dirige la asociación de RISC a sitios específicos en la región 3' no traducida del RNAm blanco. Si el apareamiento de bases entre el miRNA y su RNAm blanco es perfecto, la función endonucleolítica de la Argonauta 2 rompe el RNAm, llevándolo a su rápida destrucción. La complementariedad imperfecta puede provocar represión traduccional o causar inestabilidad del RNAm. Este último efecto es posiblemente mediado por un mecanismo de deadenilación. Estas funciones requieren del apareamiento de bases entre la secuencia 5' del miRNA y su secuencia complementaria en el 3' del RNAm. **(B)** Biogénesis de microRNA medida por la maquinaria de *splicing* alternativo. Algunos microRNA se encuentran localizados en intrones de diversos genes. Ya que ambos productos génicos son transcritos de manera conjunta, la maquinaria de *splicing* alternativo debe trabajar a la par con el conjunto microprocesador de miRNA, procesando el mismo transcripto para obtener los dos productos génicos (mRNA y microRNA). La complejidad que representaría que un gran número de proteínas intervenga simultáneamente a un mismo transcripto podría ser superada si cada complejo procesador (*splicing* y microprocesador) actuara de modo independiente en distintos transcriptos del mismo gen. (Tomado de Wenyong Zhang et al. 2007).

rencialmente entre tumores de distintos subtipos y miRNA que individualmente están relacionados con factores clínico-patológicos, además de hallar que la expresión de DICER1 y AGO2 se correlaciona con el subtipo de tumor y puede explicar algunos de los cambios observados en la expresión de miRNA.

En otra publicación reciente, Tavazoie y su equipo²¹ reportan miRNA específicos que son capaces de suprimir el crecimiento tumoral en cáncer de mama, demostrando en un modelo de ratón que la restauración de la expresión de miR-126 y miR-335 reduce el crecimiento tumoral. Finalmente, Lowery y colaboradores, en el 2009,²² proponen controles endógenos fiables para el análisis de miRNA por qRT-PCR en el tejido mamario humano, validándolos posteriormente en biopsias mamarias.

En estos artículos queda plasmada la importancia que tienen los miRNA durante el desarrollo del cáncer. Aunque muchos de los miRNA descritos parecen actuar como oncogenes o supresores de tumor, la función de gran parte de estos miRNA asociados a tumores aún no ha sido completamente dilucidada, siendo muy pocos de ellos los que han sido descritos, como los mencionados a continuación:

El miR-125b, miR-145 y miR-155. La asociación entre la expresión de los miRNA y el cáncer de mama fue más que evidente a través de los estudios de Lorio y su grupo, en 2005;¹⁷ empleando microarraygos, identificaron 29 miRNA que fueron expresados de manera diferencial en cáncer de mama en comparación con el tejido normal de mama. Entre estos 29 miRNA, la diferencia más significativa se observó en miR-125b, miR-145, miR-21 y miR-155. El factor de crecimiento transformante beta (TGF-) induce la expresión del miR-155. El *knockdown* de miR-155 suprime la TEM inducida por TGF- y la disolución de las uniones estrechas celulares, así como la migración y la invasión celular. Por el contrario, la expresión ectópica de miR-155 reduce los niveles de la proteína RhoA y provoca la disrupción de las uniones estrechas celulares.

El miR-21 es sobreexpresado en cáncer. Este miRNA se sobreexpresa en líneas celulares metastásicas, así como en tumores de glioma, cánceres de estómago y gástricos, hepatocarcinomas, leucemia, cáncer colorrectal, de páncreas, pulmón, próstata y mama.²³ Mir-21 es frecuentemente sobreexpresado en cáncer de mama y promueve el

crecimiento celular mediante la inhibición de los genes supresores de tumor tropomiosina-1 (TPM1) y el de muerte celular programada 4 (PDCD4).²⁴ De manera importante, la expresión de miR-21 correlaciona con el grado tumoral y la capacidad invasiva hacia los nódulos linfáticos en cáncer de mama, así como con el aumento en la expresión de proteínas como Her2 y metaloproteínas de matriz extracelular como MMP2 y MMP3, las cuales participan en el proceso metastásico.²³

El miR-205 es comúnmente reprimido en cáncer. El miR-205 ha adquirido recientemente gran relevancia clínica por su participación en los procesos de invasión celular. MiR-205 se encuentra expresado en tejidos mamarios normales y la línea celular no metastásica MCF-10A. Por el contrario, miR-205 se expresa a muy bajos niveles o está ausente en diversos tumores. La expresión ectópica de este miRNA en las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB231 es capaz de reducir la proliferación, suprimir la invasión y la metástasis *in vivo*. MiR-205 suprime la expresión de Erb3 (Her3),²⁵ altamente expresado en cáncer de mama y también a la proteína VEGF-A, que participa en los procesos angiogénicos, lo que convierte a miR-205 en un miRNA con un gran potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer de mama. Como otros blancos putativos de este miRNA, se encuentran E2F1, E2F5 y ZEB2, aunque estos últimos no se han validado.²⁶

La familia de miR-200 se asocia con la transición epitelial mesenquimal (TEM). La TEM es un prerequisito para la metástasis en el cáncer, y una de las consecuencias de la TEM es la pérdida de la E-caderina, una proteína de adhesión celular que parece funcionar como supresor de la migración y la metástasis, y que es regulada por el miR-200. Así mismo, la familia de factores de transcripción ZEB funciona como un mediador del proceso TEM y se encuentra altamente expresada en células mesenquimales invasivas. En este contexto, miR-200, identificado en líneas celulares de pulmón y mama, inhibe la expresión de los factores ZEB, lo que hace a miR-200 y a sus blancos atractivos para la terapia contra el cáncer.²⁷

La familia let-7. Los miembros de esta familia se encuentran comúnmente reprimidos en cáncer de pulmón, y algunos de ellos han sido implicados como supresores de genes de tumores. De forma general, la familia de miRNA let-7 regula la muerte celular en células humanas cancerosas.²⁸ Por ejemplo, let-7

reduce su expresión en los carcinomas de pulmón, mientras que en tejidos pulmonares normales, let-7 regula negativamente la expresión del protooncogén RAS.²⁹ Otros blancos celulares de let-7 son los reguladores del ciclo celular, como CDC25A y CDK6, c-myc, y genes embriogénicos, como HMGA2, Mlin-41 y IMP-1. La pérdida de let-7 en cáncer resulta en una desdiferenciación celular, y si ésta se da durante el desarrollo embriogénico, resulta en una reversión del proceso. Finalmente, se ha demostrado que let-7 mantiene el linaje de las células madre, existiendo una progresión TEM cuando se pierde la expresión de let-7.³⁰

El miR-10b. Este miRNA ha sido identificado como un marcador de metástasis por Ma y colaboradores, en 2007,³¹ quienes demostraron en la revista *Nature* que el miR-10b es requerido para la invasión y la metástasis del cáncer de mama, pero no para su viabilidad. Estudios *in vivo* indican que miR-10b no afecta el crecimiento primario del tumor, pero las células que sobre expresan el miRNA presentan una elevada angiogénesis evidenciada al evaluar la expresión del marcador de proliferación Ki-67 y MECA-32, una proteína marcadora de células endoteliales. El mecanismo propuesto para favorecer la invasión y la metástasis es mediante la reducción de su blanco, el factor de transcripción HOXD10, que promueve el mantenimiento del fenotipo diferenciado en células epiteliales. Finalmente, se demostró que RhoC, una proteína G involucrada en la metástasis, es reprimida por HOXD10 y se expresa de forma exacerbada en respuesta a la restauración de miR-b10.

El miR-126, miR-206 y miR-335. Estos miRNA son considerados como supresores de tumor. Tavazoie y su grupo, en 2008,²¹ revelaron que miR-335, miR-126 y miR-206 son supresores de tumor al comparar la expresión de miRNA en nódulos metastásicos contra la expresión en células de mama cancerosas no metastásicas, encontrando que estos miRNA fueron expresados a la baja en los nódulos metastásicos. En células metastásicas en las cuales se restauró la expresión de miR-335, se disminuyó la capacidad invasiva *in vitro* y el potencial metastásico *in vivo*; además, se encontró que la expresión de seis proteínas fue suprimida por miR-335. Entre éstas, se encuentran los factores de transcripción SOX4 y TNC (factor de transcripción para tenascina C, un componente de la matriz extracelular), lo que indica que estas proteínas son efectores críticos de la metástasis regulados por

el miR-335. Por otra parte, los autores encontraron que la restauración de la expresión de miR-126 disminuye significativamente el número de nódulos metastásicos *in vivo*. Este mismo miRNA también regula la invasión, migración y adhesión de células no pequeñas cancerígenas de pulmón.³²

El miR-373 y miR-520c. Estudios posteriores demuestran que miR-373 y miR-520c, al igual que miR-10b, no afectan la proliferación pero sí la migración y el fenotipo invasivo en la línea celular MCF-7, llegando incluso a favorecer la formación de nódulos. El mecanismo propuesto es a través de CD44, el cual es blanco de estos miRNA. Esto se observó en 11 muestras de carcinoma mamario humano, encontrándose que el miR-373 se encuentra sobreexpresado en cáncer, en particular en tumores que presentan metástasis en los nódulos linfáticos, a la vez que existe una correlación inversa con la expresión de CD44.³³

El miR-31 es un miRNA anti-metastásico. Otro miRNA que tiene una función pleiotrópica en cáncer de mama es miR-31. Éste fue descubierto como un miRNA antimetastásico ausente en las células tumorales de cáncer de mama. En células no metastásicas como las MCF-7, la expresión del miR-31 no tiene efecto en el crecimiento primario del tumor ni sobre la proliferación, pero en la línea celular MDA-MB-231, el miR-31 reprime genes relacionados con metástasis. Estos datos reflejan que para que un miRNA ejerza su función, debe hacerlo en conjunto con otros que deben tener un efecto acumulativo. Entre los genes blanco de este miRNA, se encuentran la metalopeptidasa de matriz 16 (MMP16), la radixina (RDX), frizzled3 (Fzd3), integrina 5 (ITGA5) y RhoA, genes que juegan un papel importante en la metástasis.³⁴

MICRORNA CIRCULANTES: POTENCIALES MARCADORES PARA DETECCIÓN DEL CÁNCER MAMARIO

La detección del cáncer de mama en una etapa temprana, el monitoreo del progreso en los pacientes y la evaluación de la respuesta a los tratamientos son elementos clave en la lucha contra el cáncer mamario, por lo que la búsqueda de nuevos marcadores es fundamental. El biomarcador ideal debe ser de fácil acceso, detectado fácilmente mediante medios no invasivos y lo suficientemente sensible para descubrir la presencia temprana de tumores en casi todos los pacientes y estar ausente o mínimo en personas sanas.³⁵

Teniendo como base que la expresión de miRNA es aberrante en el cáncer,^{36,37} que es tejido específico, que permite diferenciar estados patológicos³⁶ y que los miRNA son moléculas muy estables que se conservan bien en formol o parafina, así como tejidos frescos y congelados, surge la posibilidad de buscar miRNA como marcadores circulantes en sangre o fluidos humanos.

Diversos estudios han buscado establecer si los miRNA son detectables y cuantificables en la circulación y otros fluidos corporales (orina, saliva, etcétera). Esta área de investigación en miRNA es novedosa y tiene un gran potencial. La presencia de miRNA en suero fue descrita por primera vez en marzo de 2008.³⁸ Posteriormente, un pequeño número de estudios han reportado de manera similar la presencia de miRNA en circulación y su potencial para su uso como biomarcadores de enfermedades y estados fisiológicos, incluyendo tumores malignos, diabetes mellitus y embarazo.³⁹⁻⁴² Sin embargo, estos estudios han sido limitados por el pequeño número de pacientes y las inconsistencias en las metodologías.

PERSPECTIVA

La asociación de la expresión aberrante de miRNA con la tumorogénesis y el análisis funcional de miRNA específicos sugieren el uso de éstos como objetivos terapéuticos. Utilizando secuencias de oligonucleótidos antisentido para inactivar miRNA como el miR-21 en los tumores de mama, es posible detener el crecimiento del tumor. El antimiR-21 induce la reducción del tumor, y este efecto puede ser potenciado al adicionar el agente quimioterapéutico topotecán, un inhibidor de la DNA topoisomerasa I. Esto sugiere que la supresión del miR-21 podría sensibilizar a las células tumorales a terapéuticos y abre la posibilidad de emplear esta misma estrategia contra diversos miRNA.⁴³

Por otra parte, la inducción de los miRNA que actúan como supresores de tumores requiere de estrategias epigenéticas. Usando fármacos que remodelan la cromatina, Saito y colaboradores⁴⁴ demostraron que el miR-127 (que se encuentra suprimido en tumores) fue expresado nuevamente después del tratamiento con estos fármacos. La inducción de este miRNA se asoció con regulación a la baja del protooncogén BCL6, lo que sugiere un efecto protector contra el cáncer modulado por el

miR-127. Este concepto de miRNA como supresores tumorales inducidos por fármacos desmetilantes se ha denominado «terapia de cambio de miRNA», y tiene una gran potencial clínico.

A pesar del rápido desarrollo e incremento en la información en el campo de los miRNA, aún se desconocen todos los mecanismos que regulan su expresión, tanto en los tejidos tumorales como en la biología de una célula normal. Las herramientas bioinformáticas con que actualmente contamos para predecir los RNAm blancos de los miRNA no consideran la expresión histológica, temporal ni patológica, por lo que ha sido difícil predecir con claridad los blancos de miRNA y las rutas de señalización que éstos pueden estar regulando. Ante este panorama, los miRNA son un campo de estudio amplio y novedoso que promete ser una herramienta terapéutica, de diagnóstico y preventiva de alto valor clínico, y debe ser profundamente estudiada para ser aprovechada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martínez JL. Cáncer de mama. Boletín de Práctica Médica Efectiva. INSP. 2008. Secretaría de Salud. México.
2. International Agency for Research on Cancer, IARC. Cancer Mondial. <http://www-dep.iarc.fr>
3. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*. 2005; 435: 834-838.
4. Berezikov E, Guryev V, van de Belt J, Wienholds E, Plasterk RH, Cuppen E. Phylogenetic shadowing and computational identification of human microRNA genes. *Cell*. 2005; 120: 21-24.
5. 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.
6. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 431: 350-355.
7. Denli AM, Tops BB, Plasterk RH, Ketting RF, Hannon GJ. Processing of primary microRNAs by the microprocessor complex. *Nature*. 2004; 432 (7014): 231-235.
8. Shomron N, Levy C. MicroRNA-biogenesis and pre-mRNA splicing crosstalk. *J Biomed Biotechnol*. 2009; 2009: 594678.
9. Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N et al. The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 2004; 432: 235-240.
10. Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science*. 2004; 303 (5654): 95-98.
11. Chendrimada TP, Gregory RI, Kumaraswamy E, Norman J, Cooch N, Nishikura K et al. TRBP recruits the Dicer complex to Ago2 for microRNA processing and gene silencing. *Nature*. 2005; 436: 740-744.
12. Rand TA, Petersen S, Du F, Wang X. Argonaute2 cleaves the anti-guide strand of siRNA during RISC activation. *Cell*. 2005; 123 (4): 621-629.

13. Jakymiw A, Lian S, Eystathioy T, Li S, Satoh M, Hamel JC et al. Disruption of P bodies impairs mammalian RNA interference. *Nat Cell Biol.* 2005; 7 (12): 1267-1274.
14. Zhang W, Dahlberg JE, Tam W. MicroRNAs in tumorigenesis: a primer. *Am J Pathol.* 2007; 171 (3): 728-738.
15. Osada H, Takahashi T. Let-7 and miR-17-92: small-sized major players in lung cancer development. *Cancer Sci.* 2011; 102 (1): 9-17.
16. Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H et al. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res.* 2004; 64: 3753-3756.
17. 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; 65 (16): 7065-7070.
18. Mattie MD, Benz CC, Bowers J, Sensinger K, Wong L, Scott GK et al. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies. *Mol Cancer.* 2006; 5: 24.
19. Lowery AJ et al. Micro-RNA expression profiling in primary breast tumours. *European Journal of Cancer.* 2007; 5 Supplement 3:
20. 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: R214.
21. Tavazoie SF, Alarcón C, Oskarsson T, Padua D, Wang Q, Bos PD et al. Endogenous human micro-RNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature.* 2008; 451: 147-152.
22. Hurst DR, Edmonds MD, Welch DR. Metastamir: the field of metastasis regulatory microRNA is spreading. *Cancer Res.* 2009; 69 (19): 7495-7498.
23. Krichevsky AM, Gabriely G. MiR-21: a small multi-faceted RNA. *J Cell Mol Med.* 2009; 13: 39-53.
24. Zhu S, Si ML, Wu H, Mo YY. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). *J Biol Chem.* 2007; 282: 14328-14336.
25. Iorio MV, Casalini P, Piovan C, Di Leva G, Merlo A, Triulzi T et al. MicroRNA-205 regulates HER3 in human breast cancer. *Cancer Res.* 2009; 69 (6): 2195-2200.
26. Gregory PA, Bert AG, Paterson EL et al. The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1. *Nat Cell Biol.* 2008; 10: 593-601.
27. Park SM, Gaur AB, Lengyel E, Peter ME. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes Dev.* 2008; 22: 894-907.
28. Slamon DJ, Clark GM. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogene. *Science.* 1987; 235: 177-182.
29. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. *Cell.* 2005; 120: 635-647.
30. Peter ME. Let-7 and miR-200 microRNAs: guardians against pluripotency and cancer progression. *Cell Cycle.* 2009; 8 (6): 843-852.
31. Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature.* 2007; 449: 682-688.
32. Crawford M, Brawner E, Batte K, Yu L, Hunter MG, Otterson GA et al. MicroRNA-126 inhibits invasion in non-small cell lung carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 373: 607-612.
33. Huang Q, Gumireddy K, Schrier M, Ie Sage C, Nagel R, Nair S et al. The microRNAs miR-373 and miR-520c promote tumour invasion and metastasis. *Nat Cell Biol.* 2008; 10: 202-210.
34. Valastyan S, Reinhardt F, Benaich N, Calogrias D, Szász AM, Wang ZC et al. A pleiotropically acting microRNA, miR-31, inhibits breast cancer metastasis. *Cell.* 2009; 137: 1032-1046.
35. Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Kerin MJ. MicroRNAs as novel biomarkers for breast cancer. *Journal of Oncology.* 2010; (2010), Article ID 950201, 7 pages.
36. Lopez-Camarillo C, Marchat LA, Arechaga-Ocampo E, Perez-Plasencia C, Del Moral-Hernandez O, Castaneda-Ortiz EJ, Rodriguez-Cuevas S. MetastamiRs: non-coding Micro RNAs driving cancer invasion and metastasis. *Int J Mol Sci.* 2012; 13 (2): 1347-1379.
37. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99 (24): 15524-15529.
38. Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008; 141 (5): 672-675.
39. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105 (30): 10513-10518.
40. Chen X, Ba Y, Ma L et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.* 2008; 18 (10): 997-1006.
41. Gilad S, Meiri E, Yogeve Y et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One.* 2008; 3 (9): e3148.
42. Chin LJ, Slack FJ. A truth serum for cancer-microRNAs have major potential as cancer biomarkers. *Cell Res.* 2008; 18 (10): 983-984.
43. Si ML, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo YY. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene.* 2007; 26 (19): 2799-2803.
44. Saito Y, Liang G, Egger G et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell.* 2006; 9 (6): 435-443.

Correspondencia:

César López-Camarillo
San Lorenzo Núm. 290,
Col. Del Valle, 03100, México, D.F.
E-mail: cesar.lopez@uacm.edu.mx