



## Revisión

## Rol de los microARN en las enfermedades pulmonares

Martín Angulo<sup>a,b</sup>, Emilia Lecuona<sup>a</sup> y Jacob Iasha Sznajder<sup>a,\*</sup><sup>a</sup> Division of Pulmonary and Critical Care, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, Illinois, EE. UU<sup>b</sup> Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

## INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

## Historia del artículo:

Recibido el 26 de abril de 2012

Aceptado el 26 de abril de 2012

On-line el 17 de mayo de 2012

## Palabras clave:

MicroARN

Enfermedades pulmonares

Tabaquismo

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Cáncer de pulmón

Fibrosis pulmonar

Lesión pulmonar

Asma

## RESUMEN

Los microARN (miRs) son pequeñas moléculas de ARN no codificante capaces de regular negativamente la expresión génica. Participan activamente en la modulación de importantes procesos celulares fisiológicos y están involucrados en la patogenia de enfermedades pulmonares tales como el cáncer de pulmón, la fibrosis pulmonar, el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Un mayor conocimiento del papel que los miRs desarrollan en estas patologías podría abrir las puertas a nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas. En esta revisión, repasamos el rol que algunos miRs desempeñan en la patogenia de ciertas enfermedades pulmonares, así como la posible proyección de estos descubrimientos hacia la aplicación clínica.

© 2012 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Keywords:

MicroRNA

Lung disease

Smoking

Chronic obstructive pulmonary disease

Lung cancer

Pulmonary fibrosis

Lung injury

Asthma

## ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNA molecules that negatively regulate gene expression. They actively participate in the modulation of important cell physiological processes and are involved in the pathogenesis of lung diseases such as lung cancer, pulmonary fibrosis, asthma and chronic obstructive pulmonary disease. A better understanding of the role that miRNAs play in these diseases could lead to the development of new diagnostic and therapeutic tools. In this review, we discuss the role of some miRNAs in different lung diseases as well as the possible future of these discoveries in clinical applications.

© 2012 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

A lo largo de las últimas décadas, el análisis proteómico y genómico ha permitido comprender mejor la patogenia de ciertas enfermedades pulmonares. No obstante, a medida que se avanza en el conocimiento de su fisiopatología, la complejidad del sistema y el número de actores involucrados parecen incrementarse. Tras la exposición a una noxa diversos procesos celulares y mediadores intervienen antes de que la enfermedad se manifieste. En este sentido, los microARN (miRs) parecen jugar un rol importante en el desarrollo y progresión de las patologías pulmonares<sup>1-6</sup>.

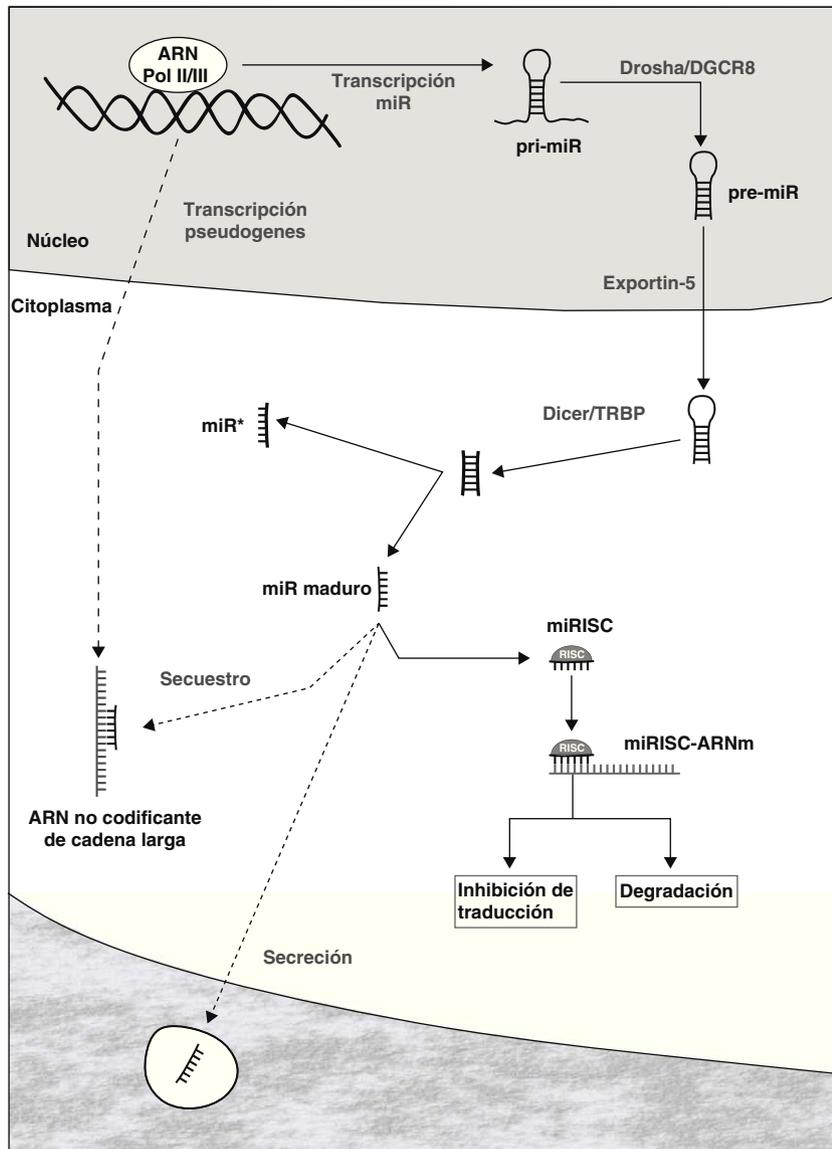
Los miRs son una clase de ARN no codificante, evolutivamente conservados y de pequeño tamaño capaces de regular la expresión génica por distintos mecanismos<sup>7</sup>. Si bien pasaron varios años entre el descubrimiento del primer miR (lin-4) en 1993 y la caracterización del segundo miembro de la familia, hasta la fecha la cantidad de miRs descritos y el número de publicaciones científicas vinculadas a los mismos han crecido exponencialmente<sup>8</sup>. Cerca de 2000 miRs humanos han sido descritos (Sanger miRBase versión 18), estando involucrados en el control de importantes procesos fisiológicos y en la patogenia de diversas enfermedades<sup>5,7,9</sup>.

## Biogénesis y función de los microARN

Los miRs pueden localizarse en intrones o exones de genes codificantes de proteínas, o en sectores no codificantes del genoma. Una

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: j-sznajder@northwestern.edu (J.I. Sznajder).



**Figura 1.** Representación esquemática de las diferentes etapas en la biogénesis de los miRs y mecanismos de represión de la expresión génica: degradación del ARNm o inhibición de su traducción. Se muestra también la posible secreción de miRs, así como su interacción con moléculas de ARN no codificante de cadena larga.

vez activada, la transcripción es llevada a cabo por la ARN polimerasa II o III, originando una estructura de ARN en forma de horquilla que constituye el transcripto primario del miR (pri-miR, figura 1)<sup>7</sup>. Dentro del núcleo, ambos extremos del pri-miR son cortados por el complejo Drosha/DGCR8 dando lugar al precursor del miR maduro (pre-miR), con un tamaño aproximado de 70-100 nucleótidos. Este es transportado activamente al citoplasma a través de Exportin-5, donde es procesado por el complejo Dicer/TRBP originando una molécula de ARN de doble cadena de 19 a 25 nucleótidos de largo. Una de las cadenas constituye el miR maduro, mientras que su complementario (denominado miR\*) es generalmente degradado. El miR maduro es incorporado al complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC por sus siglas en inglés, *RNA induced silencing complex*), cuyos componentes más importantes son las proteínas de la familia Argonauta<sup>10</sup>.

Los miRs son fundamentalmente represores de la expresión génica a nivel postranscripcional, mediante la degradación del ARN mensajero (ARNm) o la inhibición de su traducción proteica<sup>11</sup>. Una vez que el miR se encuentra incorporado al RISC (miRISC), el complejo es capaz de reconocer al ARNm diana mediante la interacción entre regiones complementarias del miR y el ARNm. Si bien

existen excepciones, como regla general el sitio de unión se encuentra en el extremo 3' de la región no codificante del ARNm. El grado de complementariedad entre ambos parece ser uno de los determinantes del mecanismo de represión que se pone en marcha: degradación del ARNm si la misma es casi perfecta, o inhibición de la traducción cuando la complementariedad es menor. Si bien se creía que la degradación del ARNm era un mecanismo infrecuente en células animales, se ha puesto de manifiesto en la actualidad un rol importante del mismo<sup>12</sup>. Es relevante el hecho de que determinado ARNm puede ser diana de un gran número de miRs, de la misma forma que cada miR puede reprimir a decenas/centenares de genes. Además, existe evidencia que sugiere la posible transferencia de miRs de una célula a otra, generando un interesante mecanismo de comunicación y regulación intercelular<sup>13-15</sup>.

La actividad de los miRs se encuentra regulada de forma estricta, mediante el control de su transcripción, de las diferentes etapas de biogénesis y posteriormente de la función del miRISC<sup>16,17</sup>. Recientemente, se ha descrito la existencia de una compleja red de comunicación entre largas moléculas de ARN no codificante (producto de la transcripción de pseudogenes), miR y ARNm<sup>18,19</sup>. Estas moléculas de ARN no codificante (de cientos a miles de

**Tabla 1**  
MicroARNs en enfermedades pulmonares

<b>let-7</b>	Cáncer, EPOC, tabaquismo	Disminuido <sup>22,25,26,43,53,58</sup>
<b>miR-1</b>	EPOC, cáncer	Disminuido <sup>34,47</sup>
<b>miR-10a</b>	Tabaquismo	Disminuido <sup>22</sup>
<b>miR-15/107</b>	EPOC	Aumentado <sup>30</sup>
<b>miR-16</b>	Lesión pulmonar	Disminuido <sup>66</sup>
<b>Conjunto miR-17~92</b>	Cáncer	Aumentado <sup>40</sup>
<b>miR-21</b>	Cáncer, fibrosis, asma	Aumentado <sup>42,60,73</sup>
<b>miR-29</b>	Fibrosis	Disminuido <sup>58,62,63</sup>
<b>miR-31</b>	Cáncer	Aumentado <sup>41</sup>
<b>miR-34</b>	Cáncer, tabaquismo	Disminuido <sup>22,26,45,46</sup>
<b>miR-123</b>	Tabaquismo	Disminuido <sup>22</sup>
<b>miR-126</b>	Asma	Aumentado <sup>74</sup>
<b>miR-127</b>	Lesión pulmonar	Disminuido <sup>67</sup>
<b>miR-133a</b>	Asma	Disminuido <sup>75</sup>
<b>miR-133b</b>	Cáncer	Disminuido <sup>48</sup>
<b>miR-145</b>	Tabaquismo	Disminuido <sup>22</sup>
<b>miR-146a</b>	EPOC	Disminuido <sup>26,28</sup>
<b>miR-146b</b>	Cáncer	Aumentado <sup>54</sup>
<b>miR-150</b>	Tabaquismo, EPOC	Disminuido <sup>26</sup>
<b>miR-155</b>	Cáncer, fibrosis	Aumentado <sup>25,58,64</sup>
<b>miR-183</b>	Hipercapnia	Aumentado <sup>69</sup>
<b>miR-199b</b>	Tabaquismo	Disminuido <sup>23,25</sup>
<b>miR-200</b>	Fibrosis	Disminuido <sup>61</sup>
<b>miR-218</b>	Cáncer, tabaquismo	Disminuido <sup>23,24</sup>
<b>miR-222</b>	Tabaquismo	Disminuido <sup>22,26</sup>

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

nucleótidos) poseen sitios de unión para miRs específicos, y se comportan como verdaderos «atrapadores» de miRs, impidiendo que los mismos repriman a sus ARNm diana.

Teniendo en cuenta la enorme capacidad de los miRs para influir sobre la expresión de gran parte del genoma y el intrincado sistema de control en el que se encuentran inmersos, es comprensible que la desregulación de los mismos repercuta significativamente sobre la homeostasis del organismo. Un número creciente de miRs ha sido implicado en distintas enfermedades pulmonares, permitiendo una mejor comprensión de la patogenia de las mismas.

### Tabaquismo

El tabaquismo constituye el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y cáncer de pulmón y se estima sea responsable de casi 5 millones de muertes por año<sup>20</sup>. Se ha demostrado que el humo de tabaco provoca cambios en la expresión génica del epitelio respiratorio, vinculados al desarrollo de estas enfermedades<sup>21</sup>. Alteraciones en los niveles de ciertos miRs parecen estar involucrados en este proceso (tabla 1). Así, se han encontrado cambios significativos en la expresión pulmonar de 133 miRs en ratas expuestas a humo de cigarrillo, algunos de los cuales podrían participar del proceso carcinogénico<sup>22</sup>. Concretamente, favorecerían la proliferación celular y la angiogénesis, a la vez que disminuirían la actividad de mecanismos supresores tumorales. Entre los miRs cuya expresión está más disminuida se encuentran miR-34c y varios miembros de la familia let-7, lo que como veremos se ha vinculado a la patogenia del cáncer de pulmón. Junto con let-7, la reducción en los niveles de miR-10a, miR-123, miR-145 y miR-222 promueve la angiogénesis, fundamental para el desarrollo y crecimiento tumoral. Schembri et al. compararon el perfil de miRs a nivel del epitelio bronquial entre individuos fumadores y no fumadores, encontrando diferencias significativas en la expresión de 28 miRs<sup>23</sup>. Se destaca el hallazgo de niveles disminuidos de miR-199b y miR-218 en los fumadores, tal como se observa en pacientes con cáncer de pulmón<sup>24,25</sup>. Por su parte, Van Pottelberge y colaboradores reportaron diferencias en la expresión de 34 miRs a nivel del esputo inducido entre fumadores y no fumadores<sup>26</sup>. Entre ellos, la reducción de miR-150 podría

tener relevancia en el deterioro de la función pulmonar vinculada al tabaquismo, ya que determinados genes implicados en la misma son diana de este miR. Integrantes de la familia let-7, miR-34c, miR-218 y miR-222 son algunos de los miRs que se encontraron descendidos en al menos dos estudios, resaltando la importancia que los mismos podrían tener en la patogenia de enfermedades relacionadas al tabaquismo como la EPOC o el cáncer de pulmón<sup>22,23,26</sup>.

### Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

La EPOC constituye la cuarta causa de muerte en el mundo, y se estima que constituya la tercera para el año 2020<sup>27</sup>. Pese a que se ha aprendido mucho sobre la patogenia de esta enfermedad con componentes inflamatorios sistémicos, pocos estudios se han enfocado hasta el momento en el papel de los miRs en la EPOC (tabla 1). Sato et al. reportaron que los fibroblastos pulmonares de pacientes con EPOC presentan una menor expresión de miR-146a tras la estimulación con citoquinas proinflamatorias, en comparación con sujetos sin EPOC pero similar historia de tabaquismo<sup>28</sup>. Esto provoca una sobreexpresión de ciclooxigenasa-2 (diana de miR-146a) y subsecuente incremento de la producción de prostaglandina E2 (PGE2). Interesantemente, la producción de PGE2 y la expresión de miR-146a post-estimulación están asociados con la gravedad de la enfermedad explorada a través del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1)<sup>28</sup>.

El análisis del perfil de miRs en el esputo inducido de pacientes con EPOC muestra diferencias con el de no fumadores o fumadores sin obstrucción al flujo aéreo<sup>26</sup>. En particular, la expresión de let-7c y miR-146a es menor en individuos con EPOC que continúan fumando que en fumadores sin obstrucción de la vía aérea. El receptor tipo II del factor de necrosis tumoral (RFNT-II), implicado en la patogenia de la EPOC, es uno de los ARNm diana de let-7c. En estos pacientes, la menor expresión de let-7c en el esputo se correlaciona inversamente con la concentración del RFNT-II. Existe además una correlación entre el nivel de let-7c y el VEF1. De esta forma, la disminución de miR-146a y let-7c podrían ser dos de los determinantes del estado inflamatorio y la progresión de la EPOC. Por otro lado, teniendo en cuenta que la reducción en los niveles de let-7 está vinculada a la carcinogénesis, surge la interrogante acerca de si alteraciones en la expresión de ciertos miRs pueden contribuir al riesgo aumentado de cáncer de pulmón en pacientes con EPOC<sup>26,29</sup>.

Recientemente, Ezzie et al. estudiaron los niveles de miRs en tejido pulmonar de fumadores con y sin EPOC<sup>30</sup>. Setenta miRs presentaron distinto grado de expresión entre ambos grupos. Algunas de estas alteraciones, como el incremento de integrantes de la familia miR-15/107, podrían afectar vías de señalización importantes en la patogenia de la EPOC, como la del factor transformador de crecimiento  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) o las proteínas de la familia Wnt.

La disfunción muscular periférica es una manifestación frecuente en la EPOC, asociada a peor calidad de vida y mayor mortalidad<sup>31,32</sup>. La atrofia y el cambio en el tipo de fibra muscular (disminución del porcentaje de fibras de contracción lenta e incremento de fibras de contracción rápida) constituyen el fenotipo característico<sup>33</sup>. Lewis et al. encontraron una reducción de 2,5 veces en la expresión de miR-1 en el cuádriceps de pacientes con EPOC, en comparación con individuos sanos<sup>34</sup>. Los autores han demostrado también una correlación positiva entre los niveles de miR-1 e índices funcionales y de gravedad de la enfermedad como el VEF1, el test de marcha de 6 minutos y el cuestionario respiratorio St. George, así como el porcentaje de fibras musculares lentas (tipo I). A su vez, los pacientes presentaron mayores niveles de la proteína histona deacetilasa 4 (cuyo ARNm es diana de miR-1) a nivel muscular, que podría explicar una vinculación entre el descenso de miR-1 y el cambio de tipo de fibra<sup>34</sup>. Otros miRs relevantes en la biología muscular, como miR-206, miR-208 o miR-499 no

presentaron diferencias significativas entre pacientes con EPOC e individuos sanos<sup>34</sup>.

### Cáncer de pulmón

El cáncer de pulmón representa una importante causa de mortalidad a nivel mundial<sup>35</sup>. A pesar de los avances en técnicas diagnósticas y terapéuticas, la supervivencia a 5 años sigue siendo muy baja<sup>36</sup>. Los miRs participan activamente en la regulación de procesos celulares tales como la proliferación, diferenciación y apoptosis. No resulta sorprendente por lo tanto la cantidad de evidencia sobre anomalías en la expresión de miRs en distintos tipos de cáncer, actuando en ciertos casos como oncogenes (denominados oncomiRs) y en otros como supresores tumorales. El cáncer de pulmón, especialmente de células no pequeñas (CPCNP), es la patología respiratoria en la cual los miRs han sido estudiados más extensamente (tabla 1). Existe gran interés en la posible utilidad de los mismos en la detección temprana de la enfermedad, subclasificación de los distintos tipos de cáncer, estadificación pronóstica, identificación de pacientes con mayor probabilidad de resistencia a la quimioterapia y eventual herramienta terapéutica<sup>37,38</sup>.

La reducción en los niveles de la enzima Dicer, necesaria para la maduración de los miRs, ha sido reportada en el tejido tumoral de pacientes con cáncer de pulmón, en los que tuvo impacto pronóstico en la supervivencia<sup>39</sup>. Los miembros del conjunto miR-17~92, sobreexpresados en el cáncer de pulmón de células pequeñas, favorecen el desarrollo tumoral y la neovascularización<sup>37,40</sup>. Liu et al. también demostraron el rol de miR-31 como oncomiR en el CPCNP, donde actúa reprimiendo a genes supresores de tumor<sup>41</sup>. Por su parte, miR-21 presenta niveles incrementados en cáncer pulmonar tanto de pacientes fumadores como no fumadores<sup>42</sup>. Este miR promueve el crecimiento celular e inhibe la apoptosis, favoreciendo el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis<sup>38</sup>. Los integrantes de la familia de miRs let-7 están caracterizados como genes supresores tumorales, reprimiendo oncogenes tales como *ras*, *myc* y *HMGA2*<sup>37</sup>. La expresión de let-7 se encuentra frecuentemente disminuida en el cáncer de pulmón, impactando negativamente en la supervivencia de los pacientes tratados quirúrgicamente<sup>43</sup>. La transcripción de miR-34 es directamente inducida por el supresor tumoral p53 en respuesta al daño del ADN, inhibiendo la proliferación celular inapropiada<sup>44</sup>. La expresión de este miR se encuentra disminuida en el tejido tumoral, asociándose a un mayor riesgo de recaída tras la resección quirúrgica<sup>45,46</sup>. Se ha reportado además una disminución en los niveles de miR-1 y miR-133b en el tejido tumoral<sup>47,48</sup>. Esto se asocia a un incremento de algunos de sus compuestos diana (MET, Pim-1, HDAC4, MCL-1, BCL2L2) involucrados en la carcinogénesis pulmonar<sup>5,47,48</sup>. La menor expresión de miR-218 en tumores de pacientes con CPCNP también ha llevado que sea planteado como un posible miR supresor tumoral<sup>24</sup>.

El estudio de los miRs puede convertirse en una herramienta diagnóstica importante a corto y mediano plazo. La clasificación histológica del cáncer pulmonar puede ser incompleta, especialmente en casos de tumores poco diferenciados, o cuando el material biopsico es escaso. La presencia de mutaciones y expresión de determinados biomarcadores sugieren la posible existencia de un mayor número de subcategorías con distintos pronósticos. Por lo tanto, la detección de determinados miRs puede ser de utilidad para entender e identificar los diferentes tipos de cáncer<sup>37</sup>. Por otro lado, más allá de su análisis a nivel del tejido tumoral, los miRs pueden ser detectados en muestras obtenidas en forma mínimamente invasiva<sup>49</sup>. En este sentido, se han comenzado a describir patrones de expresión de miRs en suero y esputo que podrían facilitar la detección precoz de pacientes con cáncer de pulmón<sup>50-52</sup>. De la misma forma, el hallazgo de ciertos miRs en el tejido tumoral tiene implicaciones pronósticas. Yanaihara et al. reportaron que la

expresión elevada de miR-155 y disminuida de let-7a-2 se correlaciona con peor supervivencia en pacientes con adenocarcinoma pulmonar<sup>25</sup>. Yu et al. describieron como el perfil de expresión de 5 miRs se asocia al pronóstico en pacientes con CPCNP, con let-7a y miR-221 actuando como protectores, mientras que miR-137, miR-372 y miR-182\* incrementan el riesgo de muerte<sup>53</sup>. En pacientes con carcinoma de células escamosas, el aumento de miR-146b en el tejido tumoral está asociado a peor supervivencia<sup>54</sup>. A nivel sérico, la detección de elevados niveles de miR-486 y miR-30d junto a bajos niveles de miR-1 y miR-499 se ha asociado también a peor pronóstico<sup>55</sup>.

Finalmente, existe gran expectativa sobre el rol que los miRs puedan tener en el desarrollo de estrategias terapéuticas en el cáncer de pulmón. La resistencia a la quimio y radioterapia constituye uno de los principales problemas actuales para el tratamiento. La expresión de algunos miRs ha sido implicada en los mecanismos de resistencia terapéutica en el cáncer de pulmón<sup>49</sup>. Este descubrimiento deja abierta no solo la posibilidad de orientar el tratamiento en base el perfil de miRs, sino también la eventual modulación de los mismos para incrementar la sensibilidad del tumor a la quimioterapia. El campo de la manipulación de los miRs *in vivo* se encuentra aún en desarrollo. No obstante, tanto la inhibición de oncomiRs específicos, como la restauración de la expresión de miRs supresores tumorales podrían constituir un avance importante en el tratamiento del cáncer de pulmón.

### Fibrosis pulmonar idiopática

La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es una enfermedad crónica caracterizada por la fibrosis del intersticio pulmonar y deterioro progresivo de la función respiratoria. La causa es desconocida y las posibilidades terapéuticas limitadas<sup>56</sup>. La fibrosis y distorsión del parénquima pulmonar pueden ser producto de la activación de las células del epitelio alveolar, estimulando una transición epitelio-mesenquimal (TEM) con acumulación de fibroblastos y miofibroblastos secretores de matriz extracelular<sup>57</sup>. Pese a que aún son escasos los trabajos al respecto, está comenzando a cobrar relevancia el rol de los miRs en la patogenia de la FPI (tabla 1). Pandit et al. reportaron diferencias significativas en la expresión de 46 miRs entre pulmones de pacientes con FPI y sujetos control<sup>58</sup>. Entre estos, se destaca la disminución de let-7d, cuyos niveles en el epitelio alveolar se correlacionan con la capacidad vital forzada. La citoquina TGF- $\beta$  reprime la transcripción de let-7d, determinando un incremento de HMGA2, una de las dianas del miR. Tanto TGF- $\beta$  como HMGA2 han sido implicados en el desarrollo de la TEM en la fibrosis pulmonar<sup>59</sup>. La represión de let-7d también podría generar la sobreexpresión de otros compuestos vinculados al proceso fibrótico como el factor de crecimiento similar a la insulina 1 y su receptor<sup>58</sup>.

Los niveles de miR-21 se encuentran aumentados a nivel pulmonar en pacientes con FPI y este incremento se localiza principalmente en los fibroblastos/miofibroblastos<sup>60</sup>. La expresión de miR-21 es inducida por TGF- $\beta$ , mientras que miR-21 reprime a Smad7 promoviendo la activación de fibroblastos mediada por TGF- $\beta$ . De esta forma, miR-21 participa en un circuito de retroalimentación positiva con TGF- $\beta$  favoreciendo el proceso fibrótico. Yang et al. reportaron recientemente que la expresión de miR-200 está disminuida en el pulmón de pacientes con FPI (miR-200a, miR-200c) y en un modelo animal de fibrosis pulmonar (miR-200a, miR-200b, miR-200c)<sup>61</sup>. Los autores demostraron que miR-200 inhibe la TEM inducida por TGF- $\beta$  en células epiteliales alveolares, posiblemente mediante la represión de ciertos factores de transcripción involucrados en el proceso, como GATA3, ZEB1 o ZEB2. Sin embargo, el propio TGF- $\beta$  regula negativamente la expresión de miR-200. Interesantemente, tanto el tratamiento con miR-200

como la inhibición de miR-21 reducen la fibrosis pulmonar experimental en ratones<sup>60,61</sup>.

La expresión pulmonar de miR-29 está reducida en ratones tras la inducción de fibrosis pulmonar, modificando la expresión de diversos genes asociados a la matriz extracelular<sup>62</sup>. En pacientes con FPI, los niveles pulmonares de miR-29 también se encuentran disminuidos<sup>58,63</sup>. La inhibición de miR-29 parece estar mediada nuevamente por TGF- $\beta$ <sup>62</sup>. Finalmente, miR-155 se encontró elevado a nivel pulmonar en pacientes con FPI y animales con fibrosis experimental<sup>58,64</sup>. Este miR reprime al factor de crecimiento de queratinocitos en los fibroblastos, e incrementa la migración de los mismos<sup>64</sup>.

### Lesión pulmonar

La lesión pulmonar aguda (LPA) y el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) se caracterizan por lesión e inflamación pulmonar, determinando edema, disminución de la distensibilidad y compromiso del intercambio gaseoso<sup>65</sup>. Alteraciones en la expresión de determinados miRs podrían participar en la regulación del proceso inflamatorio y la reparación tisular en la LPA/SDRA (tabla 1). Los niveles de miR-16 se encuentran reducidos en la LPA experimental inducida por lipopolisacárido (LPS)<sup>66</sup>. A su vez, el tratamiento con miR-16 disminuye la expresión de las citoquinas proinflamatorias interleuquina (IL) 6 y factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ) en macrófagos tras la exposición a LPS. Recientemente, Xie et al. también reportaron una disminución en la expresión pulmonar de miR-127 en un modelo animal de LPA no infecciosa y en macrófagos alveolares expuestos a LPS<sup>67</sup>. El tratamiento con miR-127 no solamente disminuyó la producción de IL-1 $\beta$ , IL-6 y FNT- $\alpha$  en macrófagos expuestos a LPS, sino que *in vivo* redujo el grado de lesión en la LPA experimental. El control ejercido por miR-127 sobre la inflamación pulmonar estaría mediado a través de la represión del receptor CD64 de los macrófagos.

Una vez establecida la lesión, la reparación del epitelio alveolar es crucial para la recuperación de los pacientes con LPA/SDRA. Este proceso requiere de la proliferación y migración de las células epiteliales. Muchos pacientes con LPA/SDRA desarrollan hipercapnia debido al compromiso del intercambio gaseoso a nivel pulmonar, o de la estrategia ventilatoria empleada en caso de requerir asistencia ventilatoria mecánica (hipercapnia permisiva). Evidencia reciente sugiere que la elevación de la presión parcial de CO<sub>2</sub> tiene efectos deletéreos en el pulmón, independientemente de los efectos sobre el pH<sup>68</sup>. La hipercapnia determina un incremento de miR-183, provocando disfunción mitocondrial al disminuir la expresión de la enzima isocitrato deshidrogenasa 2 (IDH2)<sup>69</sup>. La inducción de miR-183 por hipercapnia reduce la proliferación de fibroblastos pulmonares y células epiteliales alveolares<sup>69</sup>. La reparación del epitelio alveolar *in vitro* se encuentra afectada tanto por la hipercapnia como por miR-183, si bien ambos factores no han sido estudiados conjuntamente<sup>70,71</sup>.

### Asma

El asma es una enfermedad inflamatoria de la vía aérea, caracterizada por respuesta anormal de los linfocitos T CD4 tipo Th2 frente a determinados antígenos<sup>72</sup>. En distintos modelos de asma experimental se observa un incremento en la expresión pulmonar de miR-21<sup>73</sup>. Esto contribuiría al proceso inflamatorio en la vía aérea mediante la represión de IL-12, favoreciendo la respuesta linfocitaria tipo Th2. Los niveles de miR-126 también están aumentados en el asma experimental y su inhibición reprime la activación de linfocitos Th2, previniendo el desarrollo de hipersensibilidad en la vía aérea<sup>74</sup>. A nivel de las células del músculo liso, la disminución de miR-133a parece aumentar la hiperreactividad bronquial en un modelo animal de asma, mediante un incremento en la

expresión de RhoA<sup>75</sup>. No obstante, pese a la evidencia proveniente de los modelos experimentales, Williams et al. no encontraron diferencias en la expresión de miRs en biopsias de la vía aérea entre sujetos sanos y asmáticos leves<sup>76</sup>. Serán necesarios nuevos trabajos para comprender mejor el rol de los miRs en la patogénia del asma.

### Conclusiones

Si bien se ha demostrado ampliamente la relación de a varios miRs con las enfermedades pulmonares, aún queda mucho por comprender el rol que cada miR desempeña en la patogénia de las mismas (tabla 1). El ritmo con el que aumenta el conocimiento sobre los mismos hace especular que el conocimiento adquirido sobre los miRs pueda ser trasladado a la clínica, donde podrían constituir poderosas herramientas diagnósticas y terapéuticas. No obstante, la complejidad del sistema de control en que se encuentran inmersos y el impacto que la modificación de un miR puede tener sobre decenas de ARNm hacen que su modulación farmacológica constituya un gran desafío.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Este trabajo fue financiado en parte por la US National Institutes of Health (Grants HL-85534 y HL-48129).

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Markus Queisser por sus valiosos comentarios y sugerencias.

### Bibliografía

- Nana-Sinkam SP, Hunter MG, Nuovo GJ, Schmittgen TD, Gelinas R, Galas D, et al. Integrating the MicroRNome into the study of lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:4–10.
- Tomankova T, Petrek M, Kriegova E. Involvement of microRNAs in physiological and pathological processes in the lung. *Respir Res.* 2010;11:159.
- Zhou T, Garcia JG, Zhang W. Integrating microRNAs into a system biology approach to acute lung injury. *Transl Res.* 2011;157:180–90.
- Oglesby IK, McElvaney NG, Greene CM. MicroRNAs in inflammatory lung disease—master regulators or target practice? *Respir Res.* 2010;11:148.
- Sayed D, Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol Rev.* 2011;91:827–87.
- Pagdin T, Lavender P. MicroRNAs in lung diseases. *Thorax.* 2012;67:183–4.
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116:281–97.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993;75:843–54.
- Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2011;39:D152–7.
- Ender C, Meister G. Argonaute proteins at a glance. *J Cell Sci.* 2010;123:1819–23.
- Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet.* 2008;9:102–14.
- Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, Bartel DP. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature.* 2010;466:835–40.
- Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9:654–9.
- Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, Boettger T, Horrevoets AJ, Zeiher AM, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nat Cell Biol.* 2012;14:249–56.
- Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication. *Trends Cell Biol.* 2012;22:125–32.
- Davis-Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem.* 2010;148:381–92.
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet.* 2010;11:597–610.
- Salmela L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell.* 2011;146:353–8.

19. Karreth FA, Tay Y, Perna D, Ala U, Tan SM, Rust AG, et al. In vivo identification of tumor-suppressive PTEN ceRNAs in an oncogenic BRAF-induced mouse model of melanoma. *Cell*. 2011;147:382-95.
20. World Health Organization. The facts about smoking and health. World Health Organization Fact sheets. 2006.
21. Gower AC, Steiling K, Brothers 2nd JF, Lenburg ME, Spira A. Transcriptomic studies of the airway field of injury associated with smoking-related lung disease. *Proc Am Thorac Soc*. 2011;8:173-9.
22. Izzotti A, Calin GA, Arrigo P, Steele VE, Croce CM, De Flora S. Downregulation of microRNA expression in the lungs of rats exposed to cigarette smoke. *FASEB J*. 2009;23:806-12.
23. Schembri F, Sridhar S, Perdomo C, Gustafson AM, Zhang X, Ergun A, et al. MicroRNAs as modulators of smoking-induced gene expression changes in human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:2319-24.
24. Davidson MR, Larsen JE, Yang IA, Hayward NK, Clarke BE, Duhig EE, et al. MicroRNA-218 is deleted and downregulated in lung squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2010;5:e12560.
25. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;9:189-98.
26. Van Pottelberge GR, Mestdagh P, Bracke KR, Thas O, Durme YM, Joos GF, et al. MicroRNA expression in induced sputum of smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183:898-906.
27. Soriano JB, Rodriguez-Roisin R. Chronic obstructive pulmonary disease overview: epidemiology, risk factors, and clinical presentation. *Proc Am Thorac Soc*. 2011;8:363-7.
28. Sato T, Liu X, Nelson A, Nakanishi M, Kanaji N, Wang X, et al. Reduced miR-146a increases prostaglandin E2 in chronic obstructive pulmonary disease fibroblasts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:1020-9.
29. Koshiol J, Rotunno M, Consonni D, Pesatori AC, De Matteis S, Goldstein AM, et al. Chronic obstructive pulmonary disease and altered risk of lung cancer in a population-based case-control study. *PLoS One*. 2009;4:e7380.
30. Ezzie ME, Crawford M, Cho JH, Orellana R, Zhang S, Gelinas R, et al. Gene expression networks in COPD: microRNA and mRNA regulation. *Thorax*. 2012;67:122-31.
31. Maltais F, LeBlanc P, Whittom F, Simard C, Marquis K, Belanger M, et al. Oxidative enzyme activities of the vastus lateralis muscle and the functional status in patients with COPD. *Thorax*. 2000;55:848-53.
32. Swallow EB, Reyes D, Hopkinson NS, Man WD, Porcher R, Cetti EJ, et al. Quadriceps strength predicts mortality in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 2007;62:115-20.
33. Feroselle C, Rabinovich R, Ausin P, Puig-Vilanova E, Coronell C, Sanchez F, et al. Does oxidative stress modulate limb muscle atrophy in severe copd patients? [en prensa]. *Eur Respir J*. 2012.
34. Lewis A, Riddoch-Contreras J, Natanek SA, Donaldson A, Man WD, Moxham J, et al. Downregulation of the serum response factor/miR-1 axis in the quadriceps of patients with COPD. *Thorax*. 2012;67:26-34.
35. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*. 2009;59:225-49.
36. Miller YE. Pathogenesis of lung cancer: 100 year report. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005;33:216-23.
37. Lin PY, Yu SL, Yang PC. MicroRNA in lung cancer. *Br J Cancer*. 2010;103:1144-8.
38. Liu X, Sempere LF, Guo Y, Korc M, Kauppinen S, Freemantle SJ, et al. Involvement of microRNAs in lung cancer biology and therapy. *Transl Res*. 2011;157:200-8.
39. Karube Y, Tanaka H, Osada H, Tomida S, Tatematsu Y, Yanagisawa K, et al. Reduced expression of Dicer associated with poor prognosis in lung cancer patients. *Cancer Sci*. 2005;96:111-5.
40. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, et al. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation. *Cancer Res*. 2005;65:9628-32.
41. Liu X, Sempere LF, Ouyang H, Memoli VA, Andrew AS, Luo Y, et al. MicroRNA-31 functions as an oncogenic microRNA in mouse and human lung cancer cells by repressing specific tumor suppressors. *J Clin Invest*. 2010;120:1298-309.
42. Seike M, Goto A, Okano T, Bowman ED, Schetter AJ, Horikawa I, et al. MiR-21 is an EGFR-regulated anti-apoptotic factor in lung cancer in never-smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:12085-90.
43. 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;64:3753-6.
44. He L, He X, Lim LP, de Stanchina E, Xuan Z, Liang Y, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature*. 2007;447:1130-4.
45. Liu X, Sempere LF, Galimberti F, Freemantle SJ, Black C, Dragnev KH, et al. Uncovering growth-suppressive MicroRNAs in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15:1177-83.
46. Gallardo E, Navarro A, Vinolas N, Marrades RM, Diaz T, Gel B, et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30:1903-9.
47. Nasser MW, Datta J, Nuovo G, Kutay H, Motiwala T, Majumder S, et al. Downregulation of micro-RNA-1 (miR-1) in lung cancer. Suppression of tumorigenic property of lung cancer cells and their sensitization to doxorubicin-induced apoptosis by miR-1. *J Biol Chem*. 2008;283:33394-405.
48. Crawford M, Batte K, Yu L, Wu X, Nuovo GJ, Marsh CB, et al. MicroRNA 133B targets pro-survival molecules MCL-1 and BCL2L2 in lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;388:483-9.
49. Skrzypski M, Dziadziuszko R, Jassem J. MicroRNA in lung cancer diagnostics and treatment. *Mutat Res*. 2011;717:25-31.
50. Yu L, Todd NW, Xing L, Xie Y, Zhang H, Liu Z, et al. Early detection of lung adenocarcinoma in sputum by a panel of microRNA markers. *Int J Cancer*. 2010;127:2870-8.
51. Xing L, Todd NW, Yu L, Fang H, Jiang F. Early detection of squamous cell lung cancer in sputum by a panel of microRNA markers. *Mod Pathol*. 2010;23:1157-64.
52. Lodes MJ, Caraballo M, Suci D, Munro S, Kumar A, Anderson B. Detection of cancer with serum miRNAs on an oligonucleotide microarray. *PLoS One*. 2009;4:e6229.
53. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung cancer. *Cancer Cell*. 2008;13:48-57.
54. Raponi M, Dossey L, Jatko T, Wu X, Chen G, Fan H, et al. MicroRNA classifiers for predicting prognosis of squamous cell lung cancer. *Cancer Res*. 2009;69:5776-83.
55. Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:1721-6.
56. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183:788-824.
57. King Jr TE, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*. 2011;378:1949-61.
58. Pandit KV, Corcoran D, Yousef H, Yarlagadda M, Tzouveleki A, Gibson KF, et al. Inhibition and role of let-7d in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182:220-9.
59. Willis BC, Borok Z. TGF-beta-induced EMT: mechanisms and implications for fibrotic lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;293:L525-34.
60. Liu G, Friggeri A, Yang Y, Milosevic J, Ding Q, Thannickal VJ, et al. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis. *J Exp Med*. 2010;207:1589-97.
61. Yang S, Banerjee S, de Freitas A, Sanders YY, Ding Q, Matalon S, et al. Participation of miR-200 in Pulmonary Fibrosis. *Am J Pathol*. 2012;180:484-93.
62. Cushing L, Kuang PP, Qian J, Shao F, Wu J, Little F, et al. miR-29 is a major regulator of genes associated with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;45:287-94.
63. Pandit KV, Milosevic J, Kaminski N. MicroRNAs in idiopathic pulmonary fibrosis. *Transl Res*. 2011;157:191-9.
64. Pottier N, Maurin T, Chevalier B, Puissegur MP, Lebrigand K, Robbe-Sermesant K, et al. Identification of keratinocyte growth factor as a target of microRNA-155 in lung fibroblasts: implication in epithelial-mesenchymal interactions. *PLoS One*. 2009;4:e6718.
65. Wheeler AP, Bernard GR. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: a clinical review. *Lancet*. 2007;369:1553-64.
66. Cai ZG, Zhang SM, Zhang Y, Zhou YY, Wu HB, Xu XP. MicroRNAs are dynamically regulated and play an important role in LPS-induced lung injury. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90:37-43.
67. Xie T, Liang J, Liu N, Wang Q, Li Y, Noble PW, et al. MicroRNA-127 Inhibits Lung Inflammation by Targeting IgG Fc gamma Receptor 1. *J Immunol*. 2012;188:2437-44.
68. Vadasz I, Hubmayr RD, Nin N, Sporn PH, Sznajder JI. Hypercapnia - a Non-permissive Environment for the Lung. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012;46:417-21.
69. Vohwinkel CU, Lecuona E, Sun H, Sommer N, Vadasz I, Chandel NS, et al. Elevated CO(2) levels cause mitochondrial dysfunction and impair cell proliferation. *J Biol Chem*. 2011;286:37067-76.
70. O'Toole D, Hassett P, Contreras M, Higgins BD, McKeown ST, McAuley DF, et al. Hypercapnic acidosis attenuates pulmonary epithelial wound repair by an NF-kappaB dependent mechanism. *Thorax*. 2009;64:976-82.
71. Wang G, Mao W, Zheng S. MicroRNA-183 regulates Ezrin expression in lung cancer cells. *FEBS Lett*. 2008;582:3663-8.
72. Locksley RM. Asthma and allergic inflammation. *Cell*. 2010;140:777-83.
73. Lu TX, Munitz A, Rothenberg ME. MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression. *J Immunol*. 2009;182:4994-5002.
74. Mattes J, Collison A, Plank M, Phipps S, Foster PS. Antagonism of microRNA-126 suppresses the effector function of TH2 cells and the development of allergic airways disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:18704-9.
75. Chiba Y, Misawa M. MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases: MiR-133a and bronchial smooth muscle hyperresponsiveness in asthma. *J Pharmacol Sci*. 2010;114:264-8.
76. Williams AE, Larner-Svensson H, Perry MM, Campbell GA, Herrick SE, Adcock IM, et al. MicroRNA expression profiling in mild asthmatic human airways and effect of corticosteroid therapy. *PLoS One*. 2009;4:e5889.