

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Uso de micro RNA en el manejo de la insuficiencia cardiaca



Luis Alejandro Arias Sosa*

Grupo de Investigación en Ciencias Biomédicas UPTC, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia

Recibido el 27 de octubre de 2016; aceptado el 7 de febrero de 2017

PALABRAS CLAVE

Arritmias;
Remodelación
cardíaca;
Insuficiencia
cardíaca;
Micro RNA;
Regeneración;
Colombia

KEYWORDS

Arrhythmias;
Cardiac remodeling;
Heart failure;
Micro RNAs;
Regeneration;
Colombia

Resumen La insuficiencia cardiaca (IC) es una enfermedad de alto impacto que afecta en gran medida a todas las poblaciones humanas, por lo que se ha hecho necesario el desarrollo de nuevas estrategias y métodos para manejarla. Entre estas encontramos a los microRNA, pequeños RNA no codificantes que regulan la expresión genética y que aparecen como una importante opción en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de esta patología. Resultados de múltiples investigaciones han establecido miRNA específicos como notorios biomarcadores de la IC, puesto que estos pueden ser aislados en fluidos corporales como la sangre y la cuantificación de sus niveles se puede correlacionar con la presencia, estado o características específicas de la enfermedad. Desde el punto de la terapéutica, por su importante rol en el control de la expresión génica y la homeostasis celular, se ha explorado su uso en la prevención o tratamiento de las características patológicas de la IC. Por ello, en esta revisión se busca mostrar la importancia de la investigación biomédica en el uso de miRNA como método para el manejo de la IC, mostrando la afectación de enfermedad en el mundo, aspectos importantes sobre la biología de los miRNA, así como avances en su uso como biomarcadores y dianas terapéuticas. © 2017 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Publicado por Masson Doyma México S.A. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Use of microRNAs in heart failure management

Abstract Heart failure (HF) is a high impact disease that affects all human populations, demanding the development of new strategies and methods to manage this pathology. That's why microRNAs, small noncoding RNAs that regulate gene expression, appear as an important option in the diagnosis, prognosis and treatment of this disease. MiRNAs seems to have a future on HF handling, because can be isolated from body fluids such as blood, and changes in its levels can be associated with the presence, stage and specific disease features, which makes them an interesting option as biomarkers. Also, due to the important role of these molecules on

* Autor para correspondencia. Teléfono: 0057 311 377 2392.

Correo electrónico: luisalejandro.arias@uptc.edu.co

regulation of gene expression and cell homeostasis, it has been explored its potential use as a therapeutic method to prevent or treat HF. That is why this review seeks to show the importance of biomedical research involving the use of miRNAs as a method to approach the HF, showing the impact of disease in the world, aspects of miRNAs biology, and their use as biomarkers and as important therapeutic targets.

© 2017 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Published by Masson Doyma México S.A. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La insuficiencia cardíaca (IC) es una patología en la cual el corazón es incapaz de bombear suficiente sangre oxigenada al cuerpo, interfiriendo con el normal funcionamiento sistémico. Esta afecta a más de 23 millones personas en todo el mundo, cifra que parece ir en aumento cada año y que se ve impulsada por factores como el envejecimiento de la población, la presencia de cardiopatías isquémicas, hipertensión, diabetes, enfermedades reumáticas, valvulares, cardiopulmonares y otras cardiomiopatías^{1,2}. Tiene un impacto tan grande en la salud pública que es considerada la primera causa de muerte en países desarrollados como Estados Unidos³. Sin embargo, no solo países industrializados sufren de esta patología; en países africanos, como Nigeria, también es un grave problema y las personas que la padecen son más jóvenes (laboralmente activos) que las de países desarrollados⁴. Por su parte, en países en vía de desarrollo como los latinoamericanos, las patologías cardiovasculares como la IC tampoco dan tregua, siendo la primera causa de muerte, debido a cambios demográficos y a hábitos de vida poco saludables⁵.

Además, aunque esta es una enfermedad que afecta principalmente a adultos, lamentablemente también se presentan múltiples casos pediátricos, deteriorando la calidad de vida de los niños que la padecen por los problemas asociados a esta y a su tratamiento, tales como largos periodos de hospitalización y las dificultades físicas que conlleva esta patología⁶.

Teniendo en cuenta la alta carga que implica esta enfermedad mundialmente, es importante considerar nuevas estrategias para manejar esta patología que parece no discriminar, deteriorando la salud de las personas globalmente y que, debido a los distintos cambios demográficos y la adopción de estilos de vida menos saludables, amenaza con aumentar su incidencia.

Durante la aparición y la progresión de esta enfermedad se propicia la activación de una serie de mecanismos compensatorios que en una primera etapa pueden ser favorables pero terminan siendo contraproducentes para la función cardíaca, incluyendo una remodelación morfológica, estructural y funcional de los tejidos cardíacos, dada por procesos de hipertrofia (aumento en la masa ventricular, debido al incremento en el volumen celular), pérdida de células musculares cardíacas (cardiomiocitos) y reemplazo de estas por material fibroso⁷. Igualmente los problemas cardíacos y el envejecimiento pueden llevar a una remodelación subcelular que causa deficiencias en el manejo del calcio, por

defectos en organelas como el retículo sarcoplásmico y las distintas proteínas que lo conforman, desencadenando problemas en la función de bombeo del corazón al alterar la capacidad contráctil de este⁸.

Estas modificaciones tanto a nivel tisular como subcelular llevan a múltiples cambios, que incluyen la alteración de niveles de expresión y liberación de múltiples moléculas. Esto incluye una alteración en los perfiles de micro RNA (miRNA), los cuales han despertado el interés científico en las áreas de la cardiología y la biomedicina en general por su potencial en la práctica clínica. Por esto en el presente artículo se busca mostrar los avances en la investigación sobre el uso de miRNA en el manejo de la IC, exponiendo algunas de sus características biológicas, metodologías usadas en su estudio, así como investigaciones recientes en su uso como biomarcadores y prospectivas como herramientas terapéuticas.

Introducción a la biología de los miRNA y sus métodos de estudio

Existen diversos mecanismos epigenéticos mediante los cuales se logra inhibir o sobreexpresar diferentes genes, al intervenir en los diferentes estadios del proceso de expresión génica sin alterar la secuencia del ADN. Entre los mecanismos de silenciamiento genético a nivel transcripcional encontramos procesos que llevan a la condensación de la cromatina mediante la modificación de histonas, tales como la tri-metilación de la histona tres en la lisina 9 o 27, así como la metilación de las islas CpG en la región promotora del ADN, la cual impide la unión de proteínas involucradas en la transcripción y promueve la unión de complejos de remodelación de la cromatina (que pueden llevar a la modificación de histonas)⁹. También se puede dar una regulación a nivel postranscripcional, en la que intervienen especialmente los miRNA, pequeños RNA de aproximadamente entre 21-25 nucleótidos) que, mediante la asociación con otras proteínas, pueden regular la expresión génica al unirse a la región 3' UTR del mRNA diana, inhibiendo su traducción a proteína.

Estos miRNA fueron descubiertos en 1993 en el nematodo *Caenorhabditis elegans* por Lee et al.¹⁰, quienes describieron la regulación de la expresión del gen LIN-4 por parte de un RNA no codificante, mediante una interacción RNA-RNA en la región 3' UTR del mRNA de este gen. Este descubrimiento cambió en gran medida nuestro conocimiento de la regulación genética, llevando a múltiples investigaciones en

este campo y a la descripción de miles de miRNA nuevos y procesos celulares en los que intervienen, al punto que actualmente en la base de datos «miRBase» versión 21 se tiene un registro de 1,881 diferentes miRNA en el genoma humano, número que, como indican Londin et al.¹¹ (2015), no representa ni la mitad de todos los existentes, pues en su estudio reportaron 3,707 nuevos miRNA humanos, número que se espera aumente a medida que se llevan a cabo más estudios en diferentes tejidos.

La biogénesis del miRNA comienza con su transcripción por la RNA polimerasa II o en algunos casos III, formando un pri-miRNA que luego es procesado por la RNasa Drosha, dando lugar a un pre-miRNA de 60-70 nucleótidos¹². Posteriormente es llevado al citoplasma con la ayuda de las proteínas Exportin5 y Ran, donde es procesado por la RNasa Dicer formando un miRNA duplex intermediario de entre 21-25 nucleótidos¹³. Por último la proteína argonauta II (Argo2) incorpora el miRNA maduro de cadena sencilla para formar el complejo Ago-RNA¹², activando de este modo el *RNA induced silencing complex* (RISC), en el cual el miRNA guía a la proteína Argo2 al mRNA objetivo por un emparejamiento inicial de 2 a 5 nucleótidos y un posterior reconocimiento más avanzado¹⁴, lo que lleva a la inhibición de la traducción de este mRNA a proteína y, por tanto, al silenciamiento o reducción de la expresión genética.

Los miRNA pueden ser secretados o liberados (por rompimiento y daño celular) desde su célula de origen para ser transportados en fluidos corporales de forma estable, como un mecanismo de comunicación intercelular¹⁵; el cual parece ser un proceso activo y selectivo, pero del que se desconocen muchos aspectos y se requieren más estudios para dilucidarlo¹⁶. Este transporte estable se da gracias a que los miRNA son encapsulados o anclados a microvesículas, exosomas, lipoproteínas de alta densidad o la misma proteína Argo2, que los llevan a sus respectivas células receptoras, previniendo su degradación¹⁷⁻²⁰.

Este transporte vía plasmática permite tomar muestras de forma poco invasiva que posteriormente, mediante técnicas de laboratorio y distintos kits comerciales, permiten aislar el miRNA de interés. Además, debido al potencial de estas moléculas se han desarrollado nuevos protocolos a fin de facilitar su obtención y purificación con fines médicos, con la visión de que se conviertan en parte de los test clínicos de rutina²¹⁻²³.

Después del aislamiento, es posible evaluar la expresión de los miRNA, mediante técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa con transcripción inversa (qRT-PCR) (la cual consiste en amplificar y cuantificar de forma simultáneamente el ADN complementario obtenido por retrotranscripción del miRNA de interés), en la cual se han desarrollado nuevos protocolos usando primers stem-loop RT (primers con una estructura tallo-bucle que son más estables y facilitan la amplificación de secuencias de nucleótidos cortas) y Oligo(dT) (usados en secuencias con cola de poly adenina), que buscan obtener una alta sensibilidad y especificidad en la cuantificación, evaluar múltiples miRNA en paralelo y aumentar la eficiencia de su análisis²⁴⁻²⁶. Igualmente otras tecnologías son normalmente usadas en el estudio y cuantificación de miRNA, entre las que resaltan los microarrays, que permiten evaluar la expresión de múltiples miRNA de forma paralela al cuantificar por niveles de fluorescencia la hibridación entre la sonda y el miRNA

de interés²⁷. Igualmente, la secuenciación de nueva generación ha cobrado gran importancia en la identificación de miRNA y en la medición de sus niveles de expresión (al cuantificar el número de lecturas durante la secuenciación como medida del nivel de expresión), dada la alta sensibilidad, precisión y eficiencia que llega a tener²⁷.

Posteriormente, mediante diferentes softwares —como NCodeTM, miRDeep2, miExpress y miRNAKey, entre otros— se obtiene la información sobre el nivel de estos miRNA en medio electrónico²⁸, lo que permite establecer diferencias en los perfiles de expresión entre diferentes grupos (ejemplo pacientes con IC frente a controles sin la enfermedad), a fin de establecer posibles biomarcadores y dianas terapéuticas para distintas enfermedades, incluyendo la IC.

Además de la cuantificación de miRNA, el establecimiento de sus genes diana y la manipulación de sus niveles son aspectos importantes en la investigación biomédica, a fin de tener un mayor entendimiento de las funciones que estos cumplen, las implicaciones de su desregulación y ser usados como una herramienta terapéutica. Los miRNA pueden afectar la expresión de múltiples genes de manera directa (por interacción con la región 3' UTR del mRNA) e indirecta (por ejemplo, al inhibir un factor de transcripción que afecta a varios genes); algunas técnicas, como la evaluación de niveles de proteína o mRNA, pueden mostrar una relación entre los niveles de miRNA y la expresión génica, pero no discriminan entre una interacción directa o indirecta²⁹. Para establecer que un gen es diana directa de un determinado miRNA, el proceso más usado es una predicción computarizada mediante la evaluación de características como complementariedad de bases, conservación entre especies, energía libre y accesibilidad al sitio de unión, las cuales pueden ser evaluadas mediante diferentes herramientas electrónicas, como miRanda, miRanda-mirSVR, TargetScan y MirTarget2, entre otras³⁰. Esta predicción es luego validada mediante métodos experimentales, siendo el ensayo de lucíferas el más usado, pues mediante la inserción de la región 3' UTR del gen diana en un vector con el gen para la luciferasa y transfectarlo a determinadas células junto al miRNA de interés, permite establecer si hay una inhibición directa, ya que si el gen es objetivo directo del miRNA la proteína de la luciferasa no será sintetizada y, por ende no se producirá luminiscencia (o se verá reducida)²⁹. También existen otras herramientas menos usadas en la validación de objetivos de miRNA, como las basadas en la inmunoprecipitación de los componentes del complejo RISC y posterior análisis del mRNA ligado a este; al igual que la amplificación de los extremos de ADN mediado por RNA ligasa (RLM-RACE) o su metodología modificada PARE, que se basa en la amplificación e identificación de los productos del clivaje del mRNA por parte de un determinado miRNA³¹.

En cuanto a la modulación de los niveles de miRNA, las estrategias más utilizadas son el uso de miRNA sintéticos de doble cadena, con modificaciones químicas que favorecen su estabilidad y la captación celular para fines de sobreexpresión, así como el uso de antagomiRs, consistentes en oligonucleótidos (secuencias cortas de nucleótidos) modificados que se unen al miRNA específico inhibiéndolo³². Estos miRNA sintéticos e inhibidores posteriormente son transportados a las células usando diferentes vectores, especialmente de tipo vírico o liposómico³², a fin de manipular

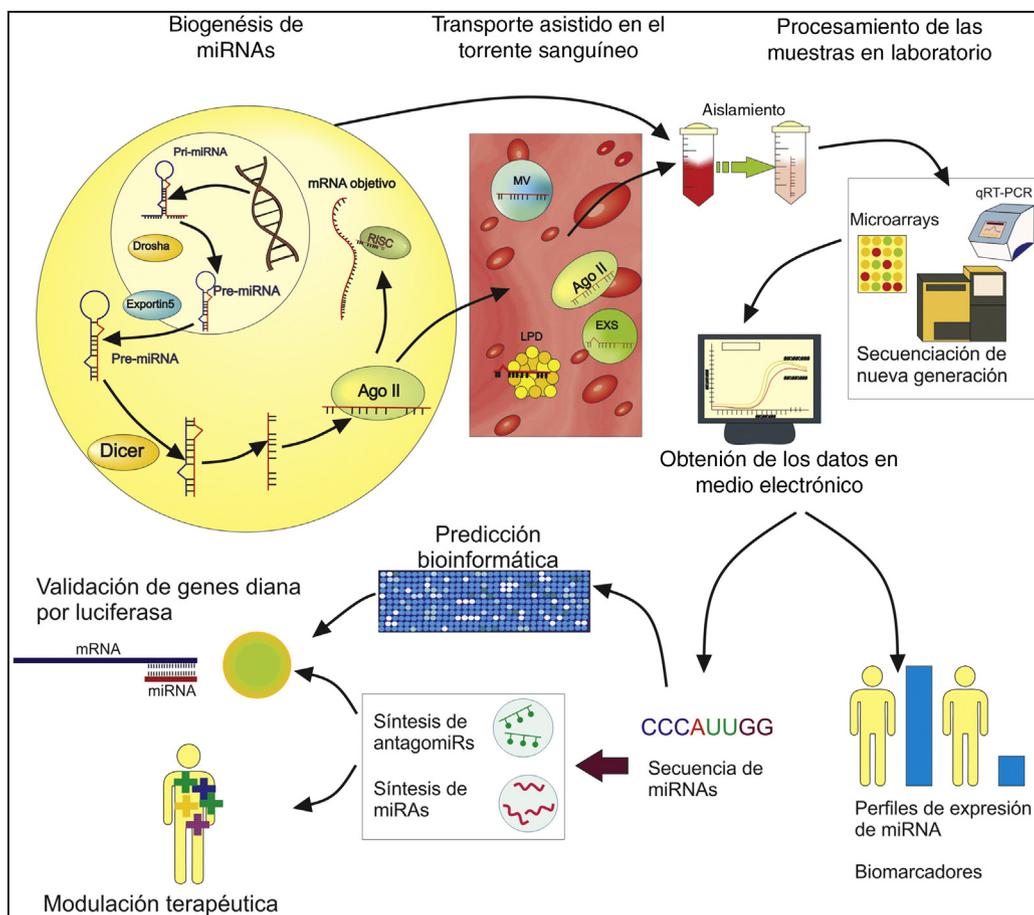


Figura 1 Los miRNA se procesan para formar un miRNA maduro que puede inhibir la expresión génica. Los miRNA se secretan o liberan en fluidos corporales como la sangre, donde son transportados en microvesículas (MV), exosomas (EXS), lipoproteínas de alta densidad (LPD) y la proteína Ago2. En el laboratorio podemos utilizar muestras de tejidos sólidos o plasma para aislar, amplificar, cuantificar y secuenciar miRNA específicos con el fin de establecer posibles biomarcadores y dianas terapéuticas. La información obtenida en medios electrónicos de los miRNA puede ser usada para predecir los posibles genes diana (que luego pueden ser validados por el ensayo de luciferasa) y la síntesis de miRNA o antagomiRs.

la expresión génica y las características celulares de interés.

Gracias a las características biológicas de los miRNA, así como los avances en técnicas y protocolos, se han propuesto nuevas estrategias para abordar enfermedades como la IC, pudiéndose asociar los niveles de miRNA con características patológicas de la enfermedad y manipular su expresión para revertirlas (fig. 1).

Uso de miRNA como biomarcadores de la insuficiencia cardíaca

¿Por qué usar miRNA como biomarcadores?

Dada la alta afectación mundial de la IC, se ha incrementado el número de artículos publicados sobre el uso de biomarcadores, en los cuales se demuestra la viabilidad y la importancia de estos como herramientas para el diagnóstico, estratificación de riesgo, biomonitorio y guía en el manejo de la enfermedad³³.

Actualmente los biomarcadores más usados son los basados en la detección y cuantificación de proteínas; sin embargo, estos presentan algunos problemas, como la complejidad de la composición proteica en la sangre, la diversidad de modificaciones postranscripcionales, la relativa poca abundancia que pueden tener algunas proteínas de interés, al igual que el alto esfuerzo y tiempo necesarios para el desarrollo de agentes de alta afinidad para su detección (por ejemplo, el desarrollo de anticuerpos)^{34,35}. Estos inconvenientes han dificultado el descubrimiento y la implementación de nuevos marcadores basados en proteínas y han puesto en evidencia la necesidad de investigar el uso de biomarcadores basados en otros tipos de moléculas³⁵.

Entre las novedosas opciones para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades humanas se ha planteado el perfil de niveles de miRNA, pues presentan características de un buen biomarcador, como estabilidad en fluidos corporales, secuencia conservada entre múltiples especies y expresión de algunos miRNA específica del tejido o condición biológica³⁵. Además también tienen algunas ventajas frente a los marcadores basados en proteínas, tales como una medición rápida y precisa de sus niveles, prácticamente

no se requiere el desarrollo de nuevos agentes de detección gracias al desarrollo de técnicas robustas basadas en PCR y secuenciación de última generación, y que gracias a las técnicas de amplificación por PCR es posible realizar análisis de miRNA en volúmenes pequeños de fluidos corporales³⁴.

Perfil de miRNA en el diagnóstico de la insuficiencia cardiaca

Como se mencionó previamente, entre las ventajas de los miRNA figuran su estabilidad en fluidos corporales, su asociación con eventos patológicos y en algunos casos la alta especificidad tisular, por lo que diferentes investigaciones han buscado establecer miRNA que sean liberados a fluidos corporales por el tejido cardiaco en respuesta al daño o pérdida celular. Esto ha llevado a la identificación de miRNA como miR-208b, miR-499 y miR-133a, que son liberados casi exclusivamente en condiciones de daño cardiaco, mostrando que el estudio de perfiles de miRNA puede ser útil en la identificación de biomarcadores séricos que reflejen el estado de los órganos y tejidos en enfermedades que afecten la función cardiaca³⁶⁻³⁸.

Esta afectación o modificación de tejidos cardiacos, especialmente los asociados a IC, como apoptosis, hipertrofia y fibrosis, están relacionados con alteraciones en la expresión de miRNA en el miocardio, los cuales son potenciales marcadores séricos de interés en el diagnóstico de la enfermedad, especialmente en etapas tempranas³⁹. En miras de lograr esto, estudios como los de Cakmak et al.⁴⁰ (2015) muestran el alto valor diagnóstico de los miRNA circulantes (extraídos de fluidos corporales), ya que encontraron 17 miRNA sobreexpresados y 11 con expresión reducida en pacientes con IC frente a controles. Igualmente, Vogel et al.⁴¹ (2015) y Li et al.⁴² (2016) encontraron que los perfiles de múltiples miRNA circulantes pueden ser biomarcadores útiles para la IC sistólica y crónica, ya que se relacionan con la presencia y la severidad de la enfermedad (evaluadas por la disminución de la fracción de eyección ventricular), mostrando una importante capacidad en el diagnóstico patológico y evaluación funcional cardiaca.

Adicionalmente Vogel et al.⁴¹ reportaron que miR-622, miR-520d-5p, miR-519e*, miR-558 y miR-200b* tienen una capacidad diagnóstica igual e incluso algo superior al marcador proteico propéptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP), mientras que Tijssen et al. (2010)⁴³ y Seronde et al.⁴⁴ (2015) mostraron que la capacidad de estas moléculas no solo se limita a la distinción de casos de IC frente a controles sanos, sino que miR-423-5p y miR-126 pueden distinguir estos de casos de disnea no relacionados a IC, indicando un buen desempeño discriminatorio por parte de algunos miRNA comparado con otro tipo de biomarcadores ya establecidos y ventajas en el uso clínico.

Estos estudios son un ejemplo del alto número de miRNA que se pueden encontrar desregulados en casos de IC, los cuales tienen potencial como herramienta diagnóstica a fin de identificar casos de IC en etapas tempranas y mejorar su manejo clínico.

Uso de miRNA en el manejo de subtipos de la enfermedad

Se estudia el uso de miRNA para diferenciar condiciones específicas, estadios o subtipos de la IC, a fin de dar una mejor guía en el abordaje de la misma. En este campo, Akat et al.⁴⁵ (2014) encontraron diferencias en los niveles de algunos miRNA circulantes entre pacientes con IC vs controles sin la enfermedad y entre pacientes con IC estable vs IC avanzada; incluso evidenciando que los niveles de miRNA de interés cambian después del tratamiento con dispositivo de asistencia ventricular. Por su parte, Ovchinnikova et al.⁴⁶ (2016) encontraron que 7 miRNA presentaban niveles de expresión significativamente reducidos en pacientes con IC aguda frente a IC crónica y controles sanos, mientras que Seronde et al.⁴⁴ (2015) reportan que los niveles de miR-126 y miR-423-5p son significativamente mayores en casos de IC aguda que en pacientes con IC avanzada. Estos estudios evidencian que los miRNA pueden ser una herramienta útil, ya que se relacionan con el daño cardiaco y progresión de la enfermedad, permitiendo de forma poco invasiva un seguimiento de los pacientes e identificación de casos avanzados de la misma.

En cuanto a subtipos de la enfermedad, Li et al.⁴⁷ (2016) encontraron numerosas diferencias en los patrones de expresión de miRNA entre casos de IC isquémica frente a IC no isquémica y recalcan la importancia de estos en la patogénesis de ambas condiciones, aumentando la comprensión de las similitudes y diferencias a nivel molecular entre estos subtipos y mostrando que la evaluación de miRNA puede ser de utilidad en la distinción de estas patologías. Otros estudios han identificado diferencias en perfiles de miRNA entre muestras de IC con fracción de eyección reducida vs fracción de eyección preservada, llegando incluso a tener mayor poder discriminatorio que otros marcadores típicos para la enfermedad, como el péptido cerebral natriurético (BNP) y el NT-proBNP, aunque lo que más se recomienda es el uso en conjunto de estos tipos de biomarcadores^{48,49}. Ello que sugiere que estos pueden ser útiles tanto en el diagnóstico de IC como en la estratificación entre estas dos formas de la enfermedad, aspecto importante en el manejo de los pacientes, pues se están implementando nuevas estrategias y regímenes terapéuticos específicos para cada subtipo⁴⁸.

Uso de miRNA en el pronóstico y la estratificación de riesgos

Otro aspecto importante es la utilidad de los miRNA en la estratificación de riesgo, tanto de desarrollar la enfermedad como de presentar complicaciones derivadas de esta, ya que podría mejorar el abordaje terapéutico y de cuidados tanto hospitalarios como posthospitalarios. En estos aspectos se ha señalado que una baja expresión de múltiples miRNA circulantes, como miR-423-5p, miR-18a-5p y miR-652-3p, es un indicador de un peor pronóstico a largo plazo en pacientes con IC aguda, relacionándose con un mayor riesgo de rehospitalización y mortalidad^{44,46}. Incluso se ha reportado que miR-182 pueden llegar a tener mayor valor en el pronóstico de mortalidad que otros biomarcadores ya establecidos para la enfermedad, como el NT-proBNP y la proteína C reactiva⁴⁰, lo que propone que la evaluación de miRNA tiene

potencial en la identificación temprana de pacientes con un mal pronóstico, buscando mejorar el cuidado y seguimiento después de darles de alta, así como como ofrecer mejores indicaciones a estos y a sus familiares.

También se ha encontrado un uso potencial de los miRNA para evaluar el riesgo de desarrollo de IC isquémica después de un infarto agudo al miocardio, basado en resultados de estudios como el de Matsumoto et al.⁵⁰ (2013), donde se encontró que los niveles de miR-192, miR-194 y miR-34a se ven elevados en pacientes que desarrollan IC después del infarto en comparación con los que no, así como lo descrito por Gidlöf et al.⁵¹ (2013), quienes encontraron que un incremento en los niveles de miR-499-5p y miR-208b se relacionaba con un incremento en el riesgo de muerte y desarrollo de IC después del infarto de miocardio, resultados que indican que el análisis de miRNA ofrece una opción de interés clínico que permitiría dar un mejor abordaje y direccionamiento del tratamiento a los pacientes que después de un ataque cardíaco presentan un alto riesgo de desarrollar IC.

Igualmente se estudia el uso de miRNA para establecer el riesgo de problemas en otros órganos asociados a esta enfermedad, como la disminución de la función renal, encontrándose que la reducción en niveles de algunos miRNA, especialmente miR-199a-3p, puede ser un útil marcador en la predicción de estos eventos, puesto que se asocia con un detrimento temprano en la función renal⁵², indicando que podría usarse como biomarcador de la progresión de la enfermedad y mejorar el manejo no solo a nivel cardíaco sino del daño a otros sistemas.

Uso de miRNA en la evaluación terapéutica

Otro enfoque en el que se estudia el uso de miRNA es como marcadores en la eficacia de tratamientos contra la IC, pues como lo evidencia un estudio reciente en modelos murinos algunos miRNA, como miR-146a y miR-342-3p, podrían ser usados como marcadores para evaluar la eficacia del tratamiento con el medicamento azilsartan medoxomil (un antagonista de los receptores de angiotensina II), observándose que una restauración de los niveles de estos miRNA inducida por este medicamento se relaciona con una mayor tasa de supervivencia y menor congestión cardíaca⁵³.

Similarmente se ha propuesto el uso de miRNA para evaluar el riesgo de rechazo al trasplante de aloinjertos cardíacos, pues se ha encontrado que la medición de niveles de miR-10a, miR-31, miR-92a y miR-155 en plasma permite distinguir con alta precisión entre pacientes que presentan rechazo y los que no, lo cual es muy importante clínicamente, puesto que el trasplante de corazón es en muchas ocasiones la única oportunidad de supervivencia en etapas avanzadas de la IC⁵⁴.

Los resultados de estos diferentes estudios muestran que múltiples miRNA tienen potencial como biomarcadores en el diagnóstico temprano, distinción de condiciones o subtipos de la enfermedad, pronóstico, estratificación de riesgo, monitoreo y evaluación de tratamientos (tabla 1), por lo que se espera que en un futuro puedan ser usados en la práctica clínica rutinaria y entrar en los lineamientos de guías clínicas para el manejo de la IC. Sin embargo una limitación de muchos de estos estudios es el bajo número de muestra,

por lo que se requieren estudios donde se evalúe un mayor número de pacientes a fin de dar un soporte basado en la evidencia más firme sobre el uso de miRNA como marcadores de la enfermedad. Además es necesario realizar más análisis comparativos entre el uso de marcadores basados en miRNA, frente a marcadores de uso rutinario de base proteica, con miras a evaluar si los miRNA tienen una capacidad superior significativa o si pueden aportar más información importante en el manejo clínico de los pacientes.

Uso de miRNA como herramienta terapéutica

El enfoque de la manipulación de la expresión genética con fines terapéuticos ha propiciado importantes avances en la investigación biomédica, mostrando un creciente interés en estrategias como la terapia génica, que mediante la transferencia de genes busca reducir las características clinicopatológicas al modificar la secuencia de nucleótidos.

Sin embargo, la expresión de genes de interés también puede ser modulada por mecanismos que no alteran la secuencia del ADN, tales como los RNA largos no codificantes (lncRNA), que pueden promover procesos como la modificación de histonas, interferencia de miRNA y control de la actividad o estabilidad de algunas proteínas. Lo mismo que la administración exógena de RNA pequeños de interferencia (siRNA), que por complementariedad perfecta inhiben un determinado gen, dando la opción de regular una vía de señalización específica. En esta categoría también encontramos a los miRNA, que son promisorios en la terapéutica, pues uno solo puede inhibir múltiples genes ya que actúan por complementariedad imperfecta, permitiendo modular múltiples vías de señalización y características de la IC.

Prevención de la pérdida de cardiomiocitos

Es notorio desde el punto de vista clínico el uso de miRNA para prevenir la muerte de células cardíacas provocada por eventos como el daño isquémico (deterioro celular por privación de oxígeno), ya sea usando este tipo de moléculas por sí solas o en conjunto con otros tratamientos (fig. 2A y B). Lo anterior se evidencia en estudios como el de Hu et al.⁵⁵ (2010), donde se encontró que al administrar miR-210 como terapia en modelos murinos con infarto de miocardio se inducía una mayor angiogénesis (formación de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes), se reducía la apoptosis y se mejoraba la función cardíaca, puesto que los genes diana de miR-210, especialmente la Ephrina A3 (EFNA3) y la proteína tirosina fosfatasa (PTP1B), se ven involucrados en la inhibición de la angiogénesis y promoción de la muerte celular.

Igualmente ensayos en modelos murinos han encontrado que la pérdida o reducción de la expresión de algunos miRNA puede contribuir a la descompensación cardíaca y desarrollo de IC, por lo que su modulación positiva sería de interés en el manejo de la enfermedad. Es el caso de miR-150, el cual juega un papel vital en la sobrevivencia de los cardiomiocitos durante el daño cardíaco isquémico, por su acción represora sobre genes proapoptóticos, como EGR2 y P2RX7⁵⁶; al igual que miR-1, -29c, -30c, -30d, -149, -486 y -499, los cuales tienen efectos represores sobre múltiples

Tabla 1 Resumen de estudios en los que se plantea el uso de miRNA como biomarcadores de la insuficiencia cardiaca (IC)

| miRNA | Tipo de muestra | Expresión | Técnica de cuantificación | Evento de interés | Grupo control | Objetivo | n | n Grupo control | Cita |
|--|---------------------------------|--------------------|---------------------------|---|--|--|----|-----------------|------|
| miR-21, miR-650, miR-744, miR-516-5p, miR-1292, miR-182, miR-1228, miR-595, miR-663b, miR-1296, miR-1825, miR-299-3p, miR-662 miR-122, miR-3148 y miR-518e | Plasma | Sobreexpresados | Microarrays | IC cardiaca crónica congestiva | Controles saludables | Determinar miRNA diferencialmente expresados | 42 | 15 | 40 |
| miR-129-3p, miR-3155, miR-3175, miR-583, miR-568, miR-30d, miR-200a-star, miR-1979, miR-371-3p, miR-155-star and miR-502-5p | Plasma | Expresión reducida | Microarrays | IC cardiaca crónica congestiva | Controles saludables | Determinar miRNA diferencialmente expresados | 42 | 15 | 40 |
| miR-182 | Plasma | Sobreexpresados | Microarrays | Mortalidad en pacientes con IC crónica congestiva | NA | Uso pronóstico | 42 | NA | 40 |
| miR-660-3p, miR-665, miR-1285-3p y miR-4491 | Plasma y biopsias ventriculares | Sobreexpresados | Microarrays | IC crónica | Controles saludables | Diagnóstico y severidad de la enfermedad | 14 | 10 | 41 |
| miR-622, miR-520d-5p, miR-519e*, miR-200b*, miR-1228*, miR-122*, miR-558 y miR-1231 | Plasma | Sobreexpresados | Microarrays | IC no isquémica con fracción de eyección reducida | Controles saludables | Diagnóstico y severidad de la enfermedad | 53 | 39 | 42 |
| miR-519e* | Plasma | Sobreexpresados | Microarrays | IC no isquémica con fracción de eyección reducida | NA | Pronóstico | 43 | NA | 42 |
| miR423-5p | Plasma | Sobreexpresados | Microarrays | IC | Controles saludables y pacientes con disnea no asociada a IC | Diagnóstico | 30 | 39-20 | 43 |

Tabla 1 (continuación)

| miRNA | Tipo de muestra | Expresión | Técnica de cuantificación | Evento de interés | Grupo control | Objetivo | n | n Grupo control | Cita |
|--|--------------------------|---|-----------------------------------|---|--|--|-----|-----------------|------|
| miR-208b, miR-208a, miR-499, miR-1-1 y miR-133b | Tejido cardíaco y plasma | Sobreexpresados | Secuenciación de nueva generación | IC (crónica y avanzada) y cambios en los niveles de miRNA después del tratamiento | Controles saludables | Diagnóstico de daño cardíaco y búsqueda de dianas terapéuticas | 34 | 8 | 44 |
| miR-18a-5p, miR-26b-5p, miR-27a-3p, miR-30e-5p, miR-106a-5p, miR-199a-3p, y miR-652-3p | Plasma | Expresión reducida | qRT-PCR | IC aguda | Controles saludables y pacientes con IC crónica | Relación entre miRNA y la IC aguda. Pronóstico de mortalidad | 137 | 41-20 | 45 |
| miR-126 y miR-423-5p | Plasma | Con expresión reducida | qRT-PCR | IC Aguda | Controles con disnea no asociada IC y Pacientes con IC crónica | Diagnóstico diferencial de las enfermedades | 236 | 58-44 | 46 |
| 166 diferentes miRNA | No especificado | Desregulación | Secuenciación de nueva generación | IC isquémica | Controles sanos y muestras con IC no isquémica | Pronóstico Identificación de miRNA diferencialmente expresados en IC isquémica | 8 | 8-8 | 47 |
| miR-183-3p, miR-190a, miR-193b-3p, miR-193b-5p, miR-211-5p, miR-494, miR-1233 y miR-671-5p | Plasma | Expresión reducida Sobreexpresados (miR-1233 y miR-671-5p) | Microarrays | IC | Controles sanos | Diagnóstico | 58 | 28 | 48 |

Tabla 1 (continuación)

| miRNA | Tipo de muestra | Expresión | Técnica de cuantificación | Evento de interés | Grupo control | Objetivo | n | n Grupo control | Cita |
|--|-----------------|---|---------------------------|--|--|---|-----|-----------------|------|
| miR-125a-5p, miR-190a, miR-550a-5p y miR-638 | Plasma | Desregulados | Microarrays | IC con fracción de eyección reducida | Pacientes con IC con fracción de eyección preservada | Diferenciar estas condiciones de la enfermedad | 39 | 19 | 48 |
| miR-30c, miR-146a, miR-221, miR-328 y miR-375 | Plasma | Sobreexpresados Con expresión reducida (miR-375) | Microarrays | IC con fracción de eyección reducida | Controles sanos y pacientes con IC con fracción de eyección preservada | Diagnóstico Diferenciar estas condiciones de la enfermedad | 90 | 90-90 | 49 |
| miR-208b y miR-499-5p | Plasma | Sobreexpresado | qRT-PCR | Mortalidad y desarrollo de IC después de un infarto de miocardio | NA | Pronóstico de desarrollo de IC después de un infarto cardiaco | 424 | NA | 51 |
| miR-199a-3p, miR-27a-3p, miR-652-3p, miR-423-5p, and miR-let-7i-5p, miR-18a-5p, miR-106a-5p y miR-223-3p | Plasma | Con expresión reducida | qRT-PCR | Detrimiento en la función renal en pacientes con IC | NA | Pronóstico de problemas en la función renal en pacientes con IC | 98 | NA | 52 |
| miR-31, miR-92a, miR-155 y miR-10a | Tejido y plasma | Sobreexpresados Con expresión reducida (miR-10a) | qRT-PCR | Rechazo de aloinjertos en pacientes con trasplante cardiaco | Pacientes con trasplante cardiaco que no presentaban rechazo | Identificación de marcadores para el rechazo a implantes de aloinjertos | 30 | 30 | 53 |

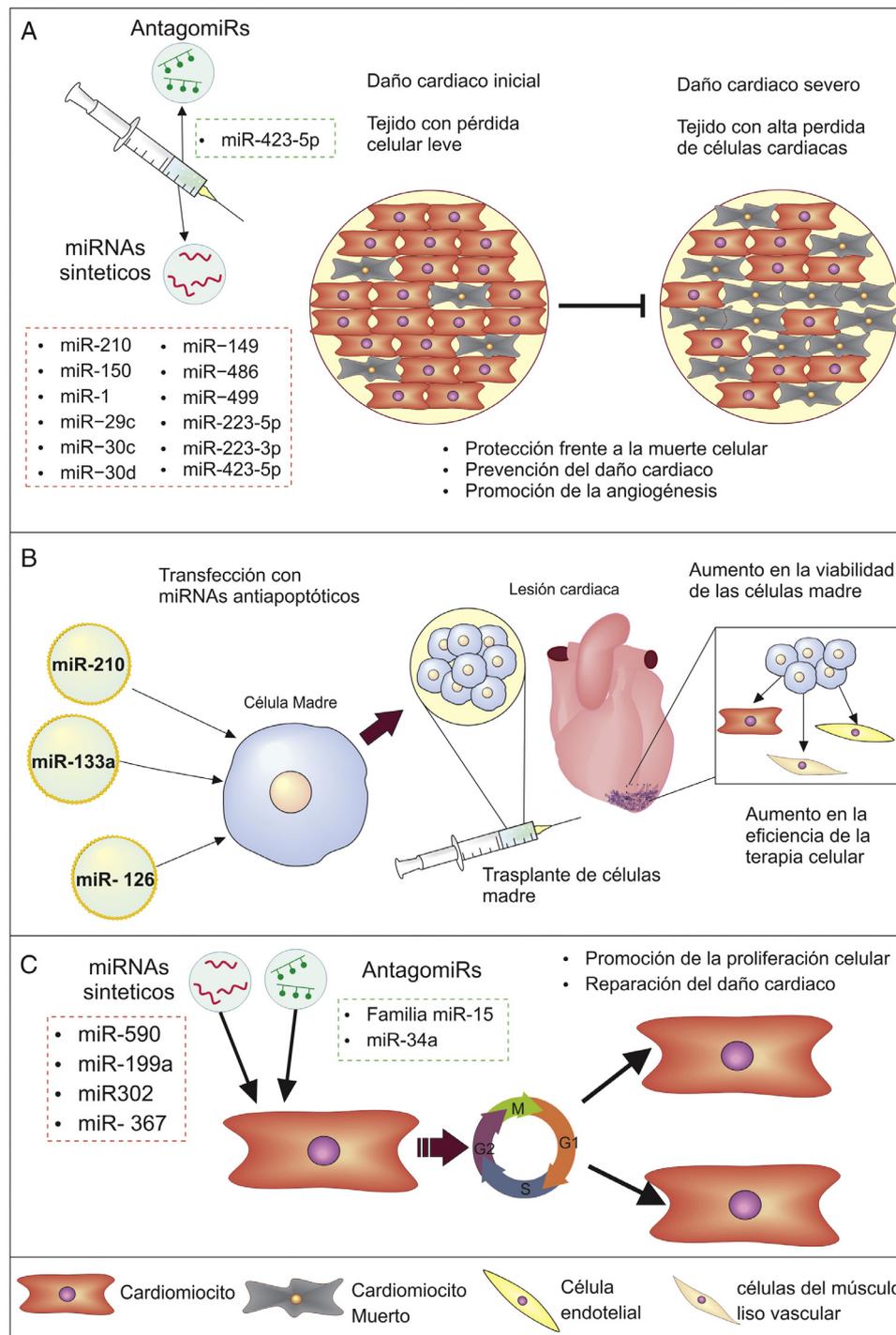


Figura 2 Abordaje terapéutico mediante sobreexpresión o represión de miRNA en la prevención y reparación del daño cardiaco. A) Prevención de la pérdida de cardiomiocitos. B) Mejora de la terapia celular. C) Promoción de la regeneración cardiaca.

factores proapoptóticos, por lo que su reducción contribuye a la pérdida de células cardiacas⁵⁷.

Además, los miRNA pueden regular otros procesos que contribuyen a la pérdida de células cardiacas, como lo muestran Luo y Zhang⁵⁸ (2016), quienes encontraron que miR-423-5p media la apoptosis inducida por H₂O₂ (una especie de oxígeno reactivo que causa estrés oxidativo) y su

represión protege a los cardiomiocitos de la muerte, siendo de importancia en la prevención del daño por episodios de isquemia/reperfusión. Estas moléculas también son importantes en la necrosis, otro proceso de muerte celular de importancia que influye en la pérdida de función del corazón, campo en el cual se ha reportado que miR-223-5p/-3p pueden regular directamente a los genes TNFR1, DR6, IKK α y

NLRP3, suprimiendo la necrosis en células cardiacas y mejorando la función ventricular, lo que sugiere su uso potencial en el tratamiento del daño miocárdico⁵⁹.

Por otro lado, el uso de miRNA puede incrementar los beneficios de la terapia celular; como se puede apreciar en el estudio de Dakhllallah et al.⁶⁰ (2015), quienes reportan que al usar células madre mesenquimales transfectadas con miR-133a para tratar ratones con infarto al corazón se incrementaba la eficacia del trasplante celular, se mejoraba la función cardiaca, mientras que se evidenciaba una reducción en la fibrosis y apoptosis. Esto debido a que la sobreexpresión de miR-133 reducía la de factores proapoptóticos como Apaf-1, caspasa 9 y caspasa 3, protegiendo a las células implantadas de la muerte celular⁶⁰. Otro estudio en ratones con infarto de miocardio mostró que la transferencia de exosomas con miR-126 y miR-210 desde células endoteliales cardiacas hacia células madre progenitoras cardiacas trasplantadas incrementaba la supervivencia de estas al activar quinasas que promueven la supervivencia celular y promover cambios metabólicos beneficiosos⁶¹, indicando que la transferencia previa al trasplante de miR-126 y miR-210, como en el estudio anterior, podría ser beneficiosa para el tratamiento. Esta reducción en la muerte de células madre es de gran importancia, pues el principal problema de estas terapias celulares es su baja viabilidad en el trasplante⁶⁰, convirtiendo el mejoramiento de este tratamiento mediante miRNA en una buena oportunidad para aumentar la eficacia de esta herramienta terapéutica.

Recuperación de cardiomiocitos

Uno de los campos en los que se ve una mayor oportunidad terapéutica con los miRNA es la regeneración cardiaca, pues el corazón de los mamíferos adultos tiene una capacidad mínima de renovación de sus células. Aun así, se ha logrado incrementar esta habilidad proliferativa en experimentos con ratones mediante la inducción exógena de algunos miRNA, como miR-590, miR-199a y el clúster miR-302-367, promoviendo la entrada de cardiomiocitos al ciclo celular y teniendo marcados efectos positivos en la reparación cardiaca^{62,63}. Esto debido al rol de miR-590 y miR-199a en múltiples vías que controlan la proliferación celular y la estructuración muscular cardiaca, así como la represión por parte del clúster miR-302-367 sobre de la vía de señalización Hippo, la cual regula aspectos como el tamaño de los órganos y la proliferación celular^{62,63}.

Por otra parte, miembros de la familia de miR-15 impiden la proliferación de cardiomiocitos, por lo que al inhibir estos miRNA en ratones adultos se aumenta la proliferación celular y se mejora la función sistólica ventricular derecha después de eventos de cardiopatía isquémica⁶⁴. Igualmente se ha visto que miR-34a inhibe la capacidad regenerativa cardiaca al controlar la expresión de genes relacionados con la división celular y la apoptosis, como BCL2, Cíclica D1 y SIRT1, e incluso el uso de antagoniRs para este miRNA mejora la remodelación cardiaca después del infarto de miocardio⁶⁵. Esto muestra como la modificación de los niveles de determinados miRNA, ya sea por inhibición o por sobreexpresión, es una estrategia promisoriosa para incrementar la poca capacidad regenerativa del corazón, dando

nuevas esperanzas para las personas con daño cardiaco e IC (fig. 2C).

Reducción de la hipertrofia

Otros miRNA han llamado la atención por su implicación en el proceso de hipertrofia, pues el incremento patológico de la masa ventricular tiene un importante rol en el desarrollo y la progresión de la enfermedad. A fin de proponer estrategias terapéuticas se han establecido miRNA que promueven este proceso y cuya modulación negativa sería prometedora en el tratamiento de la IC, como es el caso de miR-214 y miR-30, puesto que inhiben la expresión del factor de transcripción XBP1 y contribuyen al paso de la hipertrofia cardiaca compensatoria hacia la IC, ya que este gen es importante en la promoción de angiogénesis y en el mantenimiento de las funciones cardiacas normales en los estados tempranos de la hipertrofia⁶⁶. Igualmente, en estudios con modelos murinos se ha visto que la inyección intravenosa de antagoniRs específicos para miR-132, miR-212 y miR-208a bloquea la hipertrofia cardiaca y el desarrollo de remodelación patológica, mientras que mejora la función cardiaca y aumenta la supervivencia de estos animales, mostrando potencial como una estrategia terapéutica para abordar la enfermedad^{67,68}.

Igualmente se han establecido miRNA con función antihipertrofica y cuya sobreexpresión parece tener efectos positivos en la regulación de procesos de remodelación patológica y progresión de la IC. Es el caso de miR-185 y miR-218, pues ensayos en ratones han mostrado que estos miRNA disminuyen sus niveles al inducir procesos hipertroficos en estos modelos, mientras que su modulación positiva mediante la transfección de miRNA sintéticos a cardiomiocitos de ratones tuvo efectos positivos en la reducción de la hipertrofia, gracias a la regulación que ejerce miR-185 sobre varios genes involucrados en la vía de señalización del Ca⁺ y miR-218 sobre el factor de transcripción REST^{69,70}. De manera similar se ha encontrado que la sobreexpresión de miR-99a y miR-26a en ratones con IC y cardiomiocitos cultivados reduce el fenómeno de hipertrofia, al menos en parte porque estos miRNA inhiben la traducción de proteínas que promueven este proceso, como la diana de rapamicina (mTOR), el factor de transcripción GATA4 y el factor de transcripción de silenciamiento de RE1 (REST)^{71,72}.

Reducción de la fibrosis

Dado que el corazón humano tiene una capacidad regenerativa casi nula, la formación de una cicatriz fibrosa es el único mecanismo disponible para su reparación; sin embargo, una fibrosis mantenida afecta negativamente la función cardiaca contribuyendo al desarrollo de la IC⁷. Uno de los factores que promueve este proceso maladaptativo es la angiotensina II (Ang2), por lo cual se ha estudiado el papel de los miRNA en este proceso, encontrándose que fibroblastos cultivados con Ang2 presentan mayores niveles de miR-503 y menores de miR-29, lo que lleva a una mayor proliferación de estas células, al incremento en la producción de colágeno y a la sobreexpresión del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β)^{73,74}. Incluso se observó que al restaurar los niveles de miR-29b en cultivos de fibroblastos y modelos murinos expuestos a Ang2 se bloqueaban la fibrosis y la

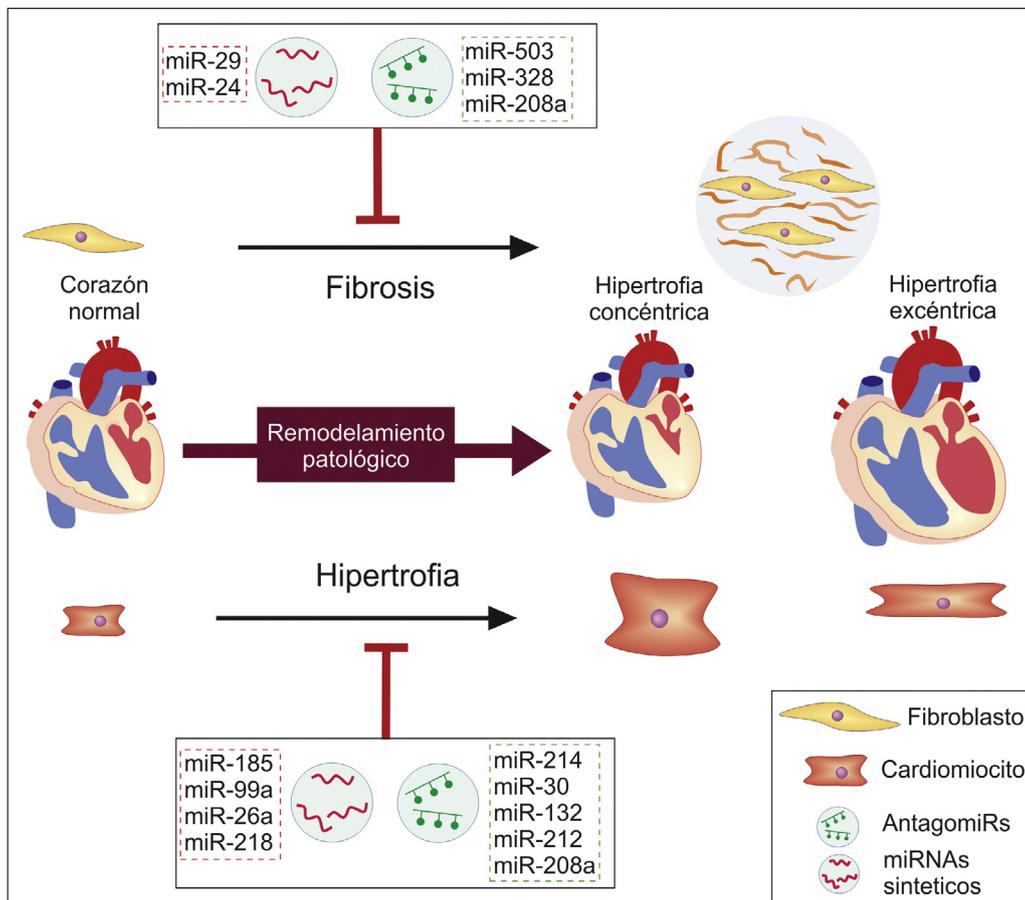


Figura 3 Uso terapéutico de los miRNA para prevenir procesos de remodelación patológica como la fibrosis e hipertrofia, a fin de impedir y tratar la progresión de la insuficiencia cardiaca.

disfunción cardiaca⁷⁴, indicando que la manipulación exógena de estas moléculas puede tener efectos favorables en este componente del remodelación patológica, previniendo una respuesta maladaptativa y progresión de la IC (fig. 3).

Similarmente se ha encontrado que la sobreexpresión de miR-328 y miR-208a incrementa significativamente la fibrosis miocárdica, mientras que su represión por medio de antagomiRs o medicamentos reducía este fenómeno en modelos murinos; debido a que miR-328 reprime a TGF β RIII, mientras que miR-208a incrementa la expresión de la endoglin, promoviendo así la activación de la vía pro-fibrolítica TGF- β ^{75,76}. De forma contraria, miR-24 inhibe la vía TGF- β , por lo que su sobreexpresión mejora la función cardiaca y reduce la fibrosis en modelos murinos, mientras que en experimentos *in vitro* reduce la diferenciación, la proliferación y la migración de fibroblastos⁷⁷, mostrando que mediante la modulación de estos miRNA se logra controlar vías promotoras de la fibrosis y remodelación patológica del tejido cardiaco, teniendo un efecto positivo a nivel funcional.

Mejora en la función contráctil

Otra característica de la IC es la alteración de la contractilidad miocárdica, derivada en gran medida por la alteración de la estructura y componentes subcelulares encargados del

manejo del calcio, proceso que puede darse al menos en parte por una desregulación de miRNA (fig. 4). Esto incluye un aumento en los niveles de miR-25, ya que este promueve la pérdida de la función contráctil al inhibir la expresión de la bomba de absorción de calcio del retículo sarcoplásmico (SERCA2a), alterando la capacidad de bombeo del corazón, razón por la cual tratamientos en modelos murinos de inhibición de este miRNA muestran efectos favorables al incrementar la sobrevivencia de los animales, controlar la IC y mejorar la contractilidad y la función cardiacas⁷⁸.

No solo suelen darse problemas de arritmias por la reducción de la entrada de calcio al retículo sarcoplásmico, sino por el exceso en liberación de este, fenómeno que puede atribuirse a un incremento en la expresión de los receptores de rianodina (RyR2) y mayor actividad de estos; procesos que se han encontrado en parte regulados por miRNA, pues experimentos en ratones han mostrado que una disminución en los niveles de miR-106b, miR-93 y miR-25 se relaciona con una mayor expresión de RyR2, llevando a una mayor susceptibilidad de arritmias⁷⁹. Igualmente, otros estudios en corazones de caninos con IC crónica evidenciaron que la sobreexpresión de miR-1 y miR-33 incrementa la arritmogénesis, en parte debido a que miR-33 inhibe la expresión de la subunidad catalítica de la fosfatasa 2A, lo que implica una mayor fosforilación y actividad de los receptores RyR2, un incremento en la fuga de calcio e indicadores de pro-arritmias⁸⁰.

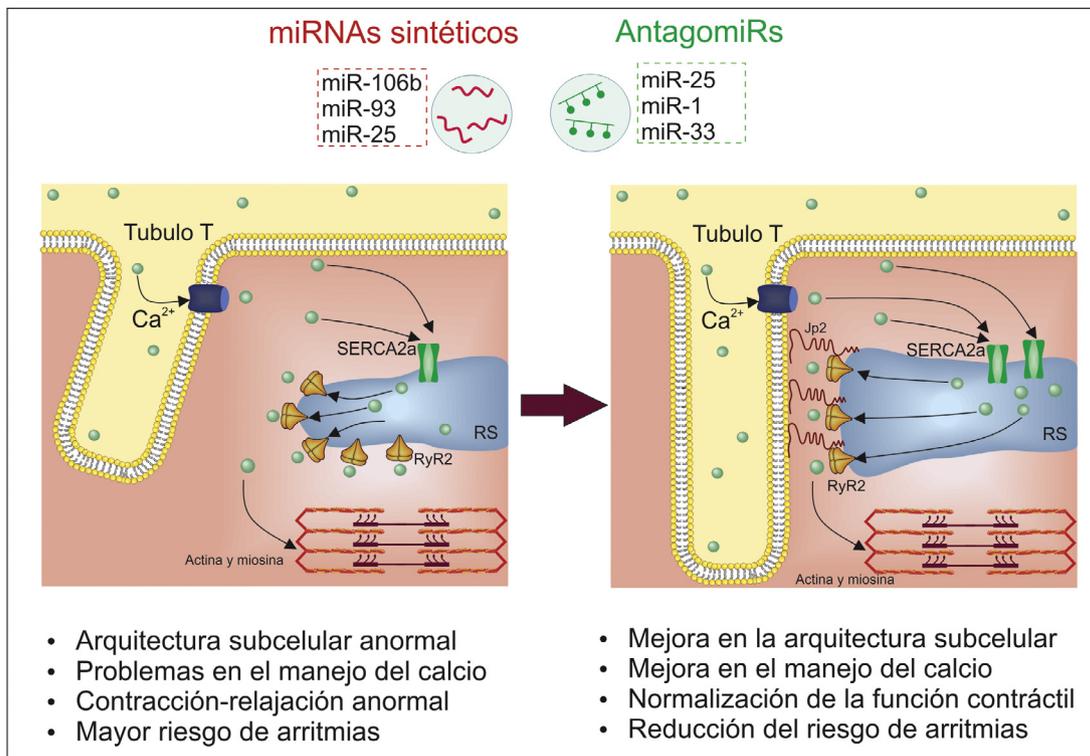


Figura 4 Mejora en la función contráctil mediante la administración de miRNA sintéticos o antagomiRs, a fin de normalizar la arquitectura subcelular, mejorar el manejo del calcio y reducir el riesgo de arritmias.

Otro componente de interés en las células del músculo cardiaco es la Junctophilina 2 (Jp2), una proteína que sirve de anclaje del retículo sarcoplásmico a los túbulos T y la cual es suprimida por miR-24, por lo que la sobreexpresión de este miRNA altera de forma negativa la estructura subcelular y deriva en un acoplamiento contracción-excitación deficiente^{81,82}. Incluso en experimentos *in vivo*, la supresión de miR-24 previene la transición de una hipertrofia compensada a una hipertrofia descompensada y mejora el acoplamiento excitación-contracción, presentándose como una estrategia de interés en la IC⁸¹. Finalmente, cabe mencionar que la sobreexpresión de miR-22 en modelos murinos incrementa la hipertrofia y la disfunción contráctil al alterar la entrada de calcio y su carga en el retículo sarcoplásmico, dado que este miRNA afecta la expresión de múltiples factores de transcripción importantes⁸³, por lo que su inhibición puede ser de importancia en la prevención y la regresión de la IC.

Estos resultados en modelos animales y cultivos celulares dan un indicativo de la utilidad de la regulación terapéutica de los miRNA no solo en la normalización de la estructura cardiaca a nivel tisular, sino a nivel de la organización intracelular y los beneficios que esto trae en la prevención de la progresión de la IC.

Por último, como se mencionó al inicio de este artículo, aunque esta es una enfermedad que afecta principalmente a personas adultas también afecta a la población infantil, por lo que es importante mencionar que se ha encontrado que los perfiles de expresión de miRNA en niños con IC difieren de los que se ven en adultos que presentan la

enfermedad, y que el tratamiento con inhibidor de la fosfodiesterasa (PDEi), que es común y muy efectivo en el manejo de la IC pediátrica (pero no en el tratamiento en adultos), altera los niveles de algunos miRNA que parecen prevenir la transición de la hipertrofia a la IC⁸⁴, lo cual plantea que lo establecido para la enfermedad en personas adultas podría no ser perfectamente extrapolable o equiparable a los casos pediátricos⁸⁴, incluyendo la investigación en miRNA.

Los casos anteriores dejan ver que los miRNA cobran cada vez más importancia como una de las herramientas disponibles para la regulación genética dirigida a tratar las características patológicas de la IC (tabla 2). Sin embargo, a fin de que estas nuevas estrategias tengan un impacto en el manejo de la enfermedad en humanos es necesario continuar con la investigación de la acción de los miRNA en la IC, estableciendo qué miRNA específicos tienen el mayor potencial como dianas terapéuticas, para facilitar la creación de protocolos que puedan ser ampliamente usados. También es importante determinar qué dosis de miRNA sintéticos o antagomiRs es la más óptima para revertir los procesos patogénicos cardiacos, así como determinar posibles efectos secundarios de estos tratamientos y umbrales o puntos de corte en cuanto a dosis o tiempo de exposición para prevenirlos. Ya que, como muestran Tian et al.⁶³ (2015), aunque una sobreexpresión controlada de determinados miRNA es beneficiosa en la regeneración cardiaca en ratones, cuando la exposición es por tiempos prolongados puede llevar a la disfunción y desdiferenciación de cardiomiocitos. También hay que tener en cuenta que es necesario establecer vectores no inmunogénicos que eviten

Tabla 2 Resumen de estudios en los que se modulan los niveles de miRNA a fin de modificar las características patológicas de la insuficiencia cardiaca (IC). Se muestra el tipo de modulación que se realizó en el estudio, sus resultados y la estrategia terapéutica propuesta acorde a estos

| miRNA | Modulación usada en el estudio | Evento de interés | Modelo usado | Efecto | Estrategia terapéutica | Cita |
|---|--------------------------------|---|--|---|---|------|
| miR-210 | Positiva | Infarto cardiaco y cardiopatías isquémicas | Cultivos celulares de cardiomiocitos HL-1 sometidos a hipoxia Ratones FMB con infarto cardiaco inducido | Aumento de la angiogénesis Reducción de apoptosis Mejora en la función ventricular | Promoción de la expresión de este miRNA | 55 |
| miR-150 | Negativa o inhibición | Infarto cardiaco y cardiopatías isquémicas | Ratones knock-out para el gen de miR-150, con infarto cardiaco inducido | Reducción de la función cardiaca Mayor remodelación cardiaca patológica | Promoción de la expresión de este miRNA | 56 |
| miR-1, miR-29c, miR-30c, miR-30d, miR-149, miR-486, miR-499 | Negativa o inhibición | Cardiopatía dilatada | Células HEK293 Cardiomiocitos de ratones neonatos | Reducción de la viabilidad celular (mayor apoptosis) | Promoción de la expresión de estos miRNA | 57 |
| miR-423-5p | Negativa o inhibición | Apoptosis de células cardiacas por estrés oxidativo | Cardiomiocitos | Aumento de la viabilidad celular (reducción de la apoptosis) | Inhibir este miRNA | 58 |
| miR-223-5p/-3p | Positiva | Daño cardiaco isquémico | Ratones transgénicos que con sobreexpresión de miR-223-5p/3p | Mejora en la función cardiaca y recuperación después de daño isquémico | Promoción de la expresión de este miRNA | 59 |
| miR-133a | Positiva | Terapia celular en la recuperación cardiaca | Ratones con infarto cardiaco inducido | Aumento en la viabilidad de las células madre implantadas Mejora en la función cardiaca Reducción de fibrosis | Transfección de células madre con este miRNA previa al tratamiento | 60 |
| miR-126 y miR-210 | Positiva | Terapia celular en la recuperación cardiaca | Ratones con infarto cardiaco inducido | Aumento en la viabilidad de las células madre implantadas Mejora en la función cardiaca | Transfección de células madre con estos miRNA previa al tratamiento | 61 |

Tabla 2 (continuación)

| miRNA | Modulación usada en el estudio | Evento de interés | Modelo usado | Efecto | Estrategia terapéutica | Cita |
|--------------------|--------------------------------|--|---|---|--|------|
| Cluster miR302-367 | Positiva | Regeneración cardiaca | Modelos murinos | Aumento de la proliferación de cardiomiocitos | Promoción de la expresión de estos miRNA | 62 |
| miR-590 y miR-199a | Positiva | Regeneración cardiaca | Cardiomiocitos y modelos murinos | Aumento de la proliferación de cardiomiocitos | Promoción de la expresión de estos miRNA | 63 |
| Familia miR-15 | Negativa | Regeneración cardiaca | Modelos murinos con infarto cardiaco inducido | Aumento de la proliferación de cardiomiocitos | Inhibición de estos miRNA | 64 |
| miR-34a | Negativa | Regeneración cardiaca | Modelos murinos con infarto cardiaco inducido | Aumento de la proliferación de cardiomiocitos Mejora en la reparación cardiaca | Inhibición de este miRNA | 65 |
| miR-208a | Negativa | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Modelos murinos (ratones Dahl/SS) | Disminución de la remodelación patológica Aumento en la función cardiaca y supervivencia | Inhibición de este miRNA | 67 |
| miR-212 y miR-132 | Negativa | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Modelos murinos con hipertrofia inducida | Reducción de hipertrofia y mejora en la función cardiaca | Inhibición de este miRNA | 68 |
| miR-185 | Positiva | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Miocytes ventriculares de ratones neonatos con hipertrofia inducida | Reducción de la hipertrofia en cardiomiocitos | Promoción de la expresión de este miRNA | 69 |
| miR-218 | Positiva | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Miocytes ventriculares de ratones neonatos con hipertrofia inducida | Reducción de la hipertrofia en cardiomiocitos | Promoción de la expresión de este miRNA | 70 |
| miR-26a | Positiva | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Modelos murinos y cardiomiocitos con hipertrofia inducida | Reducción de la hipertrofia | Promoción de la expresión de este miRNA | 71 |
| miR-99a | Positiva | Hipertrofia y remodelación patológica cardiaca | Modelos murinos y cardiomiocitos con hipertrofia inducida | Reducción de la hipertrofia Mejora en la función cardiaca | Promoción de la expresión de este miRNA | 72 |

Tabla 2 (continuación)

| miRNA | Modulación usada en el estudio | Evento de interés | Modelo usado | Efecto | Estrategia terapéutica | Cita |
|---------------------------|--------------------------------|---|--|---|---|------|
| miR-29b | Positiva | Fibrosis y remodelación patológica cardíaca | Modelos murinos y cardiomiocitos con fibrosis e hipertensión inducida | Reducción de la fibrosis y mejora de la función cardíaca | Promoción de la expresión de este miRNA | 74 |
| mir-208a | Negativa | Fibrosis y remodelación patológica cardíaca | Modelos murinos con fibrosis inducida | Reducción de la fibrosis cardíaca | Inhibición de este miRNA | 75 |
| miR-328 | Negativa | Fibrosis y remodelación patológica cardíaca | Modelos murinos y cardiomiocitos con fibrosis e hipertensión inducidas | Reducción de la fibrosis cardíaca | Inhibición de este miRNA | 76 |
| miR-24 | Positiva | Fibrosis y remodelación patológica cardíaca | Modelos murinos con infarto cardíaco y fibrosis inducida | Reducción de la fibrosis cardíaca | Promoción de la expresión de este miRNA | 77 |
| miR-25 | Negativa | Contractilidad cardíaca | Cardiomiocitos y modelos murinos con IC inducida | Mejora en la función contráctil y cardíaca | Inhibición de este miRNA | 78 |
| miR-106b, miR-93 y miR-25 | Negativa | Contractilidad cardíaca | Ratones knock-out para los genes de miR-106b, miR-93 y miR-25 | Mayor susceptibilidad a arritmias | Promoción de la expresión de este miRNA | 79 |
| miR-1 y miR-33 | Positiva | Contractilidad cardíaca | Cardiomiocitos caninos | Liberación de calcio anormal asociado a pro-arritmias cardíacas | Inhibición de este miRNA | 80 |
| miR-24 | Negativa | Contractilidad e hipertrofia cardíaca | Modelos murinos con hipertrofia e IC inducidas | Protección frente la hipertrofia descompensada y problemas contráctiles cardíacos | Inhibición de este miRNA | 81 |
| miR-24 | Positiva | Contractilidad cardíaca | Cardiomiocitos de ratón | Deficiencia en el acoplamiento excitación-contracción | Inhibición de este miRNA | 82 |
| miR-22 | Positiva | Contractilidad e hipertrofia cardíaca | Ratones transgénicos que sobreexpresan a miR-22 | Promoción de procesos hipertróficos, disfunción contráctil y desarrollo de IC | Inhibición de este miRNA | 83 |

la degradación del miRNA, con una buena tasa de entrada a las células receptoras y que permitan selectividad de las células cardíacas a transfectar. Otra importante limitación del uso de miRNA en la terapéutica es el hecho de ser una herramienta relativamente nueva que ha sido probada en su gran mayoría en estudios en cultivos celulares o modelos murinos, por lo que su efecto real en la salud humana aún es desconocido y se requieren ensayos clínicos para elucidarlo y para comparar el desempeño de terapias basadas en modulación de miRNA frente a tratamientos estándares.

Perspectivas futuras

Importantes avances se han dado en los últimos años en el estudio del potencial médico de la evaluación de perfiles de miRNA, así como en la modulación de estos, llevando actualmente a la realización de múltiples ensayos observacionales para establecer miRNA biomarcadores en diversas enfermedades. También se están llevando a cabo ensayos clínicos en fases I y II (MRX34, MRG-201, MRG-106 y SPC3649) de medicamentos basados en miRNA sintéticos y antagomiRs para tratar varios tipos de cáncer, prevenir la fibrosis y combatir la hepatitis C. Esto muestra el interés de la comunidad biomédica en llevar el uso de miRNA a la práctica clínica, como una nueva estrategia para la evaluación y el tratamiento de patologías humanas.

Entre los diferentes miRNA que se han descrito y propuesto son especialmente promisorios aquellos que han demostrado una mayor capacidad que otros biomarcadores ya usados en la práctica clínica o que brindan nueva información sobre la enfermedad y su impacto en la salud a corto, mediano y largo plazo, aunque estudios con mayor número de muestra aún son necesarios. En cuanto a la terapéutica, probablemente los miRNA más novedosos son los aplicados al campo de la regeneración cardíaca, pues existen estrategias usadas en la práctica clínica para reducir procesos como la hipertrofia y la fibrosis y para mejorar la función contráctil; sin embargo, la mayoría de tratamientos rutinarios no tienen un mayor efecto en la recuperación de cardiomiocitos perdidos. Lo anterior sin dejar de resaltar la importancia de otros miRNA que pueden llegar a mejorar el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de la enfermedad.

Conclusiones

El uso de estrategias basadas en miRNA para el manejo de la IC ha cobrado gran interés en el campo de la biomedicina debido a que pueden ser usados como biomarcadores que brindan información valiosa sobre el estado cardíaco y su impacto sobre la salud. También aparecen como promisorias herramientas en la terapia de la enfermedad por su capacidad de inducir cambios celulares sin alterar la secuencia genética (como otros tipos de terapia génica) y los resultados positivos en ensayos celulares y modelos murinos, que muestran como la modulación positiva o negativa de miRNA clave puede prevenir o revertir la remodelación cardíaca tisular y subcelular. Además, con los avances en las tecnologías genómicas de secuenciación, cuantificación y síntesis de ácidos nucleicos, así como el creciente conocimiento de

la biología de los miRNA y su implicación en la IC, se espera que lleguen a tener un impacto positivo en los pacientes con esta enfermedad.

Financiación

Autofinanciado.

Conflicto de intereses

No se declara conflicto de intereses alguno.

Agradecimientos

A la universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia y el grupo de investigación Grupo de Investigaciones Biomédicas por su apoyo académico. Especial agradecimiento al Dr. Juan Carlos Gallego por su colaboración en la etapa inicial del artículo y por compartir su conocimiento sobre miRNA en el área biomédica.

Bibliografía

1. Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC. Epidemiology and risk profile of heart failure. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8:30–41, <http://dx.doi.org/10.1038/nrcardio.2010.165>.
2. Khatibzadeh S, Farzadfar F, Oliver J, et al. Worldwide risk factors for heart failure: a systematic review and pooled analysis. *Int J Cardiol*. 2013;168:1186–94, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.11.065>.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Heart disease and stroke statistics—2012 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125:e2–220, <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0b013e31823ac046>.
4. Ogah OS, Stewart S, Falase AO, et al. Contemporary profile of acute heart failure in Southern Nigeria: Data from the Abeokuta Heart Failure Clinical Registry. *JACC Hear Fail*. 2014;2:250–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchf.2013.12.005>.
5. Hernández-Leiva E. Epidemiología del síndrome coronario agudo y la insuficiencia cardíaca en Latinoamérica. *Rev Española Cardiol*. 2011;64:34–43, <http://dx.doi.org/10.1016/j.recesp.2011.01.022>.
6. Rossano JW, Kim JJ, Decker JA, et al. Prevalence, morbidity, and mortality of heart failure-related hospitalizations in children in the United States: A population-based study. *J Card Fail*. 2012;18:459–70, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cardfail.2012.03.001>.
7. Piek A, de Boer RA, Silljé HHW. The fibrosis-cell death axis in heart failure. *Heart Fail Rev*. 2016;21:199–211, <http://dx.doi.org/10.1007/s10741-016-9536-9>.
8. Dhalla NS, Rangi S, Babick AP, et al. Cardiac remodeling and subcellular defects in heart failure due to myocardial infarction and aging. *Heart Fail Rev*. 2012;17:671–81, <http://dx.doi.org/10.1007/s10741-011-9278-7>.
9. Miller JL, Grant PA. The role of DNA methylation and histone modifications in transcriptional regulation in humans. *Subcell Biochem*. 2013;61:289–317, http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-4525-4_13.
10. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V, et al. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993;75:843–54, [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-Y](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-Y).
11. Londin E, Loher P, Telonis AG, et al. Analysis of 13 cell types reveals evidence for the expression of

- numerous novel primate- and tissue-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:E1106–15, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1420955112>.
12. Graves P, Zeng Y. Biogenesis of mammalian microRNAs: A global view. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2012;10:239–45, <http://dx.doi.org/10.1016/j.gpb.2012.06.004>.
 13. Okada C, Yamashita E, Lee SJ, et al. A high-resolution structure of the pre-microRNA nuclear export machinery. *Science*. 2009;326:1275–9, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1178705>.
 14. Schirle NT, Sheu-Gruttadauria J, MacRae IJ. Structural basis for microRNA targeting. *Science*. 2014;346:608–13, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1258040>.
 15. Chen X, Liang H, Zhang J, et al. Secreted microRNAs: A new form of intercellular communication. *Trends Cell Biol*. 2012;22:125–32, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2011.12.001>.
 16. Zhang Q, Xu J, Chen Q, et al. Selective secretion of microRNA in CNS system. *Protein Cell*. 2013;4:243–7, <http://dx.doi.org/10.1007/s13238-013-3006-0>.
 17. Diehl P, Fricke A, Sander L, et al. Microparticles: Major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation. *Cardiovasc Res*. 2012;93:633–44, <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvs007>.
 18. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:5003–8, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1019055108>.
 19. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, et al. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem*. 2010;285:17442–52, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M110.107821>.
 20. Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. *Nat Cell Biol*. 2011;13:423–33, <http://dx.doi.org/10.1038/ncb2210>.
 21. Cazzoli R, Buttitta F, Di Nicola M, et al. MicroRNAs derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for screening and diagnosing lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2013;8:1156–62, <http://dx.doi.org/10.1097/JTO.0b013e318299ac32>.
 22. Li Y, Kowdley KV. Method for microRNA isolation from clinical serum samples. *Anal Biochem*. 2012;431:69–75, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2012.09.007>.
 23. Santini GC, Potrich C, Lunelli L, et al. Innovative microRNA purification based on surface properties modulation. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;116:160–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.12.033>.
 24. Fiedler SD, Carletti MZ, Christenson LK. Quantitative RT-PCR methods for mature microRNA expression analysis. *Methods Mol Biol*. 2010;630:49–64, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60761-629-0_4.
 25. Le Carré J, Lamon S, Léger B. Validation of a multiplex reverse transcription and pre-amplification method using TaqMan[®] MicroRNA assays. *Front Genet*. 2014;5:413, <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2014.00413>.
 26. Salone V, Rederstorff M. Stem-loop RT-PCR based quantification of small non-coding RNAs. *Methods Mol Biol*. 2015;1296:103–8, http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2547-6_10.
 27. Eminaga S, Christodoulou DC, Vigneault F, et al. Quantification of microRNA expression with next-generation sequencing. *Curr Protoc Mol Biol*. 2013, <http://dx.doi.org/10.1002/0471142727.mb0417s103>. Chapter 4:Unit 4.17.
 28. Metpally RPR, Nasser S, Malenica I, et al. Comparison of analysis tools for miRNA high throughput sequencing using nerve crush as a model. *Front Genet*. 2013;4:20, <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2013.00020>.
 29. Martinez-Sanchez A, Murphy CL. MicroRNA target identification-experimental approaches. *Biology (Basel)*. 2013;2:189–205, <http://dx.doi.org/10.3390/biology2010189>.
 30. Peterson SM, Thompson JA, Ufkin ML, et al. Common features of microRNA target prediction tools. *Front Genet*. 2014;5:23, <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2014.00023>.
 31. Thomson DW, Bracken CP, Goodall GJ. Experimental strategies for microRNA target identification. *Nucleic Acids Res*. 2011;39:6845–53, <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkr330>.
 32. Van Rooij E, Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age. *EMBO Mol Med*. 2014;6:851–64, <http://dx.doi.org/10.15252/emmm.201100899>.
 33. Kalogeropoulos AP, Georgiopoulou VV, Butler J, et al. Clinical adoption of prognostic biomarkers: The case for heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*. 2009;55:3–13, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcad.2012.05.004>.
 34. Kim Y-K. Extracellular microRNAs as biomarkers in human disease. *Chonnam Med J*. 2015;51:51–7, <http://dx.doi.org/10.4068/cmj.2015.51.2.51>.
 35. Etheridge A, Lee I, Hood L, et al. Extracellular microRNA: A new source of biomarkers. *Mutat Res*. 2011;717:85–90, <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.03.004>.
 36. Kuwabara Y, Ono K, Horie T, et al. Increased microRNA-1 and microRNA-133a levels in serum of patients with cardiovascular disease indicate myocardial damageclinical perspective. *Circ Cardiovasc Genet*. 2011;4:446–54.
 37. Ji X, Takahashi R, Hiura Y, et al. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem*. 2009;55:1944–9.
 38. Corsten MF, Dennert R, Jochems S, et al. Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010;3:499–506.
 39. Lai K-B, Sanderson JE, Izzat MB, et al. Micro-RNA and mRNA myocardial tissue expression in biopsy specimen from patients with heart failure. *Int J Cardiol*. 2009;199:79–83, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.07.043>.
 40. Cakmak HA, Coskunpinar E, Ikitimur B, et al. The prognostic value of circulating microRNAs in heart failure. *J Cardiovasc Med*. 2015;16:431–7, <http://dx.doi.org/10.2459/JCM.000000000000233>.
 41. Vogel B, Keller A, Frese KS, et al. Multivariate miRNA signatures as biomarkers for non-ischaemic systolic heart failure. *Eur Heart J*. 2013;34:2812–22, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehs256>.
 42. Li H, Fan J, Yin Z, et al. Identification of cardiac-related circulating microRNA profile in human chronic heart failure. *Oncotarget*. 2016;7:33–45, <http://dx.doi.org/10.18632/oncotarget.6631>.
 43. Tijssen AJ, Creemers EE, Moerland PD, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure. *Circ Res*. 2010;106:1035–9.
 44. Seronde M-F, Vausort M, Gayat E, et al. Circulating microRNAs and outcome in patients with acute heart failure. *PLoS One*. 2015;10:e0142237, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0142237>.
 45. Akat KM, Moore-McGriff D, Morozov P, et al. Comparative RNA-sequencing analysis of myocardial and circulating small RNAs in human heart failure and their utility as biomarkers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111:11151–6, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1401724111>.
 46. Ovchinnikova ES, Schmitter D, Vegter EL, et al. Signature of circulating microRNAs in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2016;18:414–23, <http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.332>.
 47. Li X, Liu CY, Li YS, et al. Deep RNA sequencing elucidates microRNA-regulated molecular pathways in ischemic cardiomyopathy and nonischemic cardiomyopathy. *Genet Mol Res*. 2016;15, <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15027465>.

48. Watson CJ, Gupta SK, O'Connell E, et al. MicroRNA signatures differentiate preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2015;17:405–15, <http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.244>.
49. Wong LL, Armugam A, Sepramaniam S, et al. Circulating microRNAs in heart failure with reduced and preserved left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail.* 2015;17:393–404, <http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.223>.
50. Matsumoto S, Sakata Y, Suna S, et al. Circulating p53-responsive microRNAs are predictive indicators of heart failure after acute myocardial infarction. *Circ Res.* 2013;113:322–6, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.113.301209>.
51. Gidlöf O, Smith JG, Miyazu K, et al. Circulating cardio-enriched microRNAs are associated with long-term prognosis following myocardial infarction. *BMC Cardiovasc Disord.* 2013;13:12, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2261-13-12>.
52. Bruno N, ter Maaten JM, Ovchinnikova ES, et al. MicroRNAs relate to early worsening of renal function in patients with acute heart failure. *Int J Cardiol.* 2016;203:564–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2015.10.217>.
53. Kaneko M, Satomi T, Fujiwara S, et al. AT1 receptor blocker azilsartan medoxomil normalizes plasma miR-146a and miR-342-3p in a murine heart failure model. *Biomarkers.* 2016;1–8, <http://dx.doi.org/10.1080/1354750X.2016.1204001>.
54. Duong Van Huyen J-P, Tible M, Gay A, et al. MicroRNAs as non-invasive biomarkers of heart transplant rejection. *Eur Heart J.* 2014;35:3194–202, <http://dx.doi.org/10.1093/eurheartj/ehu346>.
55. Hu S, Huang M, Li Z, et al. MicroRNA-210 as a novel therapy for treatment of ischemic heart disease. *Circulation.* 2010;122 11 Suppl:S124–31, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.928424>.
56. Tang Y, Wang Y, Park K-M, et al. MicroRNA-150 protects the mouse heart from ischaemic injury by regulating cell death. *Cardiovasc Res.* 2015;106:387–97, <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvv121>.
57. Isserlin R, Merico D, Wang D, et al. Systems analysis reveals down-regulation of a network of pro-survival miRNAs drives the apoptotic response in dilated cardiomyopathy. *Mol Biosyst.* 2015;11:239–51, <http://dx.doi.org/10.1039/c4mb00265b>.
58. Luo P, Zhang W. MicroRNA-423-5p mediates H₂O₂-induced apoptosis in cardiomyocytes through O-GlcNAc transferase. *Mol Med Rep.* 2016;14:857–64, <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2016.5344>.
59. Qin D, Wang X, Li Y, et al. MiR-223-5p and -3p cooperatively suppress necroptosis in ischemic/reperfused hearts. *J Biol Chem.* 2016, <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M116.732735>.
60. Dakhlallah D, Zhang J, Yu L, et al. MicroRNA-133a engineered mesenchymal stem cells augment cardiac function and cell survival in the infarct heart. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015;65:241–51, <http://dx.doi.org/10.1097/FJC.0000000000000183>.
61. Ong S-G, Lee WH, Huang M, et al. Cross talk of combined gene and cell therapy in ischemic heart disease: Role of exosomal microRNA transfer. *Circulation.* 2014;130 11 Suppl 1:S60–9, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007917>.
62. Eulalio A, Mano M, Ferro MD, et al. Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature.* 2012;492:376–81, <http://dx.doi.org/10.1038/nature11739>.
63. Tian Y, Liu Y, Wang T, et al. A microRNA-Hippo pathway that promotes cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration in mice. *Sci Transl Med.* 2015;7:279ra38, <http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3010841>.
64. Porrello ER, Mahmoud AI, Simpson E, et al. Regulation of neonatal and adult mammalian heart regeneration by the miR-15 family. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:187–92, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1208863110>.
65. Yang Y, Cheng H-W, Qiu Y, et al. MicroRNA-34a plays a key role in cardiac repair and regeneration following myocardial infarction: novelty and significance. *Circ Res.* 2015;117:450–9, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.305962>.
66. Duan Q, Chen C, Yang L, et al. MicroRNA regulation of unfolded protein response transcription factor XBP1 in the progression of cardiac hypertrophy and heart failure in vivo. *J Transl Med.* 2015;13:363, <http://dx.doi.org/10.1186/s12967-015-0725-4>.
67. Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, et al. The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. *Nat Commun.* 2012;3:1078, <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms2090>.
68. Montgomery RL, Hullinger TG, Semus HM, et al. Therapeutic inhibition of miR-208a improves cardiac function and survival during heart failure. *Circulation.* 2011;124:1537–47, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.030932>.
69. Kim JO, Song DW, Kwon EJ, et al. miR-185 Plays an anti-hypertrophic role in the heart via multiple targets in the calcium-signaling pathways. *PLoS One.* 2015;10:e0122509, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122509>.
70. Liu J-J, Zhao C-M, Li Z-G, et al. miR-218 involvement in cardiomyocyte hypertrophy is likely through targeting REST. *Int J Mol Sci.* 2016;17:848, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17060848>.
71. Liu Y, Wang Z, Xiao W. MicroRNA-26a protects against cardiac hypertrophy via inhibiting GATA4 in rat model and cultured cardiomyocytes. *Mol Med Rep.* 2016;14:2860–6, <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2016.5574>.
72. Li Q, Xie J, Wang B, et al. Overexpression of microRNA-99a attenuates cardiac hypertrophy. *PLoS One.* 2016;11:e0148480, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0148480>.
73. Zhou Y, Deng L, Zhao D, et al. MicroRNA-503 promotes angiotensin II-induced cardiac fibrosis by targeting Apelin-13. *J Cell Mol Med.* 2016;20:495–505, <http://dx.doi.org/10.1111/jcmm.12754>.
74. Zhang Y, Huang X-R, Wei L-H, et al. MiR-29b as a therapeutic agent for angiotensin II-induced cardiac fibrosis by targeting TGF- β /Smad3 signaling. *Mol Ther.* 2014;22:974–85, <http://dx.doi.org/10.1038/mt.2014.25>.
75. Du W, Liang H, Gao X, et al. MicroRNA-328, a potential anti-fibrotic target in cardiac interstitial fibrosis. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39:827–36, <http://dx.doi.org/10.1159/000447793>.
76. Wang B-W, Wu G-J, Cheng W-P, et al. MicroRNA-208a increases myocardial fibrosis via endoglin in volume overloading heart. *PLoS One.* 2014;9:e84188, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0084188>.
77. Wang J, Huang W, Xu R, et al. MicroRNA-24 regulates cardiac fibrosis after myocardial infarction. *J Cell Mol Med.* 2012;16:2150–60, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01523.x>.
78. Wahlquist C, Jeong D, Rojas-Muñoz A, et al. Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart. *Nature.* 2014;508:531–5, <http://dx.doi.org/10.1038/nature13073>.
79. Chiang DY, Kongchan N, Beavers DL, et al. Loss of microRNA-106b-25 cluster promotes atrial fibrillation by enhancing ryanodine receptor type-2 expression and calcium release. *Circ Arrhythmia Electrophysiol.* 2014;7:1214–22, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCEP.114.001973>.
80. Belevych AE, Sansom SE, Terentyeva R, et al. MicroRNA-1 and -133 increase arrhythmogenesis in heart failure by dissociating phosphatase activity from RyR2 complex. *PLoS One.* 2011;6:e28324, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0028324>.
81. Li R-C, Tao J, Guo Y-B, et al. In vivo suppression of microRNA-24 prevents the transition toward decompensated hypertrophy in aortic-constricted mice. *Circ Res.* 2013;112:601–5, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.300806>.

82. Xu M, Wu H-D, Li R-C, et al. Mir-24 regulates junctophilin-2 expression in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2012;111:837-41, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.277418>.
83. Gurha P, Wang T, Larimore AH, et al. MicroRNA-22 promotes heart failure through coordinate suppression of PPAR/ERR-nuclear hormone receptor transcription. *PLoS One*. 2013;8:e75882, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0075882>.
84. Stauffer BL, Russell G, Nunley K, et al. MiRNA expression in pediatric failing human heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2013;57:43-6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.01.005>.