

LOS MICRORNA EN LOS HUMANOS: ¿QUÉ SON Y CÓMO INTERVIENEN EN NUESTRA SALUD?

por OLIVER CUEVAS CORRAL

ALUMNO DE 2º CURSO DEL GRADO EN BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

OLIVERCUEVAS@UMA.ES

RESUMEN: Los microRNA (miRNA) son secuencias cortas de RNA, de unos 22 nucleótidos, implicadas en la regulación de la expresión génica mediante su unión a RNA mensajeros por complementariedad de bases. Por lo general, ejercen su función silenciando la expresión de genes diana al impedir la traducción de los mensajeros o promoviendo su degradación. Tienen un papel fundamental en nuestra salud y ciertos desequilibrios en los niveles de expresión de miRNA pueden dar lugar a enfermedades relacionadas con la expresión anómala de genes, como el cáncer, las enfermedades neurológicas o ciertos desórdenes autoinmunes. Por ello, la elaboración de perfiles de miRNA permite diagnosticar estas enfermedades y puede que en un futuro se desarrollen terapias génicas basadas en miRNA destinadas a tratar diversas enfermedades de origen genético.

ABSTRACT: MicroRNAs (miRNAs) are short RNA sequences of approximately 22 nucleotides involved in gene expression regulation binding to messenger RNAs by base complementarity. They generally exert their function by silencing the expression of target genes by preventing the translation of messengers or promoting their degradation. They play a key role in our health and certain imbalances in miRNA expression levels can lead to pathologies related to abnormal gene expression, such as cancer, neurological diseases or autoimmune disorders. Therefore, miRNA profiling allows these diseases to be diagnosed and miRNA-based gene therapies may be developed in the future to treat a variety of gene-based diseases.

Palabras clave: miRNA, enfermedades, terapia génica, diagnóstico.

Enviado: 14/04/2021

Keywords: miRNA, diseases, gene therapy, diagnosis.

Aceptado: 02/06/2021

Introducción

Los ácidos nucleicos son uno de los principales tipos de biomoléculas cuya función esencial es el almacenamiento de la información genética, siendo indispensables para que pueda desarrollarse la vida. Los ácidos nucleicos pueden ser de dos tipos: DNA (ácido desoxirribonucleico) y RNA (ácido ribonucleico).

El RNA se sintetiza a partir del DNA por las RNA polimerasas en un proceso conocido como transcripción. En eucariotas, existen tres tipos de RNA polimerasas (RNAP): la RNAP I, que transcribe los RNA ribosómicos (menos el 5S); la RNAP II, que transcribe los RNA mensajeros, microRNA o RNA del nucleolo; y la RNAP III, que transcribe los RNA transferentes y el RNA ribosomal 5S^[1]. Los RNA transcritos, además de contener y expresar la información genética, pueden llevar a cabo muchas más funciones, por lo que diferenciamos dos tipos principales de RNA:

- **RNA codificante:** tiene la información necesaria para sintetizar una proteína y que por tanto puede ser traducido, como el RNA mensajero.
- **RNA no codificante:** no se traduce en proteínas. Puede ser de tipos muy diversos y realizar diferentes funciones, como las ribozimas (catalizan reacciones), el RNA transferente (transporta aminoácidos) o el RNA ribosómico (que constituye las subunidades del ribosoma junto a las proteínas ribosómicas). Estos dos últimos tipos de RNA constituyen de hecho la gran mayoría del RNA presente en células eucariotas en condiciones normales (un 15 y un 80 %, respectivamente)^[2].

Dentro de los RNA no codificantes existen los microRNA (miRNA), que pertenecen al grupo de los RNA pequeños no codificantes (*sncRNAs* o *small non-coding RNAs*), una clase de RNA con una longitud menor de 200 nucleótidos y que regulan la expresión génica^[3]. Dentro de los RNA no codificantes también se incluyen los RNA largos no codificantes (*lncRNAs* o *long non-coding RNAs*) con una longi-

tud mayor de 200 nucleótidos^[3]. Específicamente, el tamaño de los miRNA en células animales suele oscilar entre los 19-25 nucleótidos^[4]. En los seres humanos, la mayoría presentan un tamaño de 22 nucleótidos^[5]. Por otro lado, en organismos vegetales los miRNA suelen presentar un tamaño mayor, de unos 20-35 nucleótidos^[6]. Los miRNA resultantes del proceso de transcripción pueden someterse a un procesamiento post-transcripcional que les confiere una estructura secundaria concreta, con formación de bucles y *overhangs* (secuencias de bases nitrogenadas que quedan sin aparear), que serán esenciales para su posterior maduración y reconocimiento por enzimas^[7].

Los miRNA son secuencias de RNA capaces de regular la expresión génica, principalmente mediante silenciamiento post-transcripcional (aunque también hay excepciones en las que los miRNA pueden activar la transcripción de ciertos genes)^[8]. Así, los miRNA pueden regular la expresión de hasta el 60% de los genes en los humanos^[9]. Se conocen alrededor de unos 1800 miRNA en los humanos^[10], los cuales llevan a cabo su función mediante la unión a RNA mensajeros diana por complementariedad de bases, lo que provoca su represión traduccional o su degradación^[11].

Biosíntesis de miRNA

El proceso de síntesis de los miRNA tiene lugar mediante una serie de pasos que transcurren tanto en el núcleo como en el citosol, y que dan como resultado final la formación de un complejo miRISC, constituido por un miRNA asociado a una proteína llamada argonauta (AGO1) (figura 1)^[11,12]. Existen dos tipos de rutas de biosíntesis de miRNA: las canónicas, que son las más habituales, y las no canónicas.

En las rutas canónicas ocurre en primer lugar la transcripción de las secuencias de DNA que codifican para miRNA por la RNA-polimerasa II o III. El transcrito inicial recibe el nombre de pri-miRNA. Las secuencias que se transcriben a miRNA pueden encontrarse formando grupos, que constituyen una unidad transcripcional^[13] y que por tanto dan lugar a transcritos formados por varios pri-miRNA adyacentes, conocidos como *miRNA clusters*. El pri-miRNA posee una estructura secundaria formadora de bucles, dentro de los cuales se encuentra la secuencia del miRNA maduro. Uno de estos bucles forma un *stem loop* terminal grande, de unos 35 nucleótidos, y hay otros bucles apicales más pequeños situados cerca de la secuencia protuberante (*overhang*) con bases no apareadas, de un tamaño de entre 3 y 23

nucleótidos^[14] (figura 2). El pri-miRNA sufrirá modificaciones post-transcripcionales típicas de eucariotas, como la adición de la cola poli-A y la *cap* de m⁷G. Después, será procesado en el núcleo por un complejo microprocesador constituido por una proteína llamada DGCR8, que reconoce una secuencia consenso del pri-miRNA: GGAC, y Drosha, una ribonucleasa de tipo III que reconoce RNA bicatenario^[15]. Esta proteína es capaz de reconocer los bucles apicales que se forman en la región central del pri-miRNA, uniéndose a él y haciendo un corte, dejando así un *overhang* de solo 2-3 nucleótidos y privando a la secuencia de la cola de poli-A. De esta manera, se transforma el pri-miRNA en un precursor del miRNA (pre-miRNA) que es exportado del núcleo a través del sistema de transporte RanGTP/RanGDP. En el citosol, el pre-miRNA sufre la acción de otra ribonucleasa III, llamada *dicer*, que corta el *stem loop* grande terminal que forma el pre-miRNA, dando lugar a un dúplex de miRNA maduro. Este miRNA bicatenario está constituido por una hebra que constituirá el miRNA definitivo, y otra que será desechada y degradada, llamada hebra pasajera. Una proteína, llamada argonauta 2 (AGO2) es capaz de unirse al miRNA bicatenario, y deshacerse de la hebra pasajera. Se hipotetiza que la «elección» de una hebra u otra depende de varios factores, como el tipo o contexto celular o la estabilidad termodinámica del extremo 5' del dúplex de miRNA. La hebra pasajera puede ser liberada al citosol y ser degradada por RNasas o bien por la propia AGO2, que posee actividad endonucleasa. Finalmente, se obtiene un complejo constituido por el miRNA y la proteína argonauta 1 (AGO1)^[16], conocido con el nombre de complejo miRISC, el cual se encarga de regular post-transcripcionalmente la expresión de diversos genes mediante su silenciamiento^[17]. La razón principal por la que estos miRNA se sintetizan por la ruta canónica es debido principalmente a que poseen bucles apicales que deben ser procesados por la proteína *drosha*, a diferencia de aquellos que se sintetizan por las rutas no canónicas^[18].

Las rutas de biosíntesis de miRNA no canónicas se dividen en 2 subtipos^[19]: 1) independiente de proteína *dicer* y 2) independiente de complejo DGCR8/*drosha*, que engloba también la síntesis de mirtrones, un tipo de miRNA localizado en los intrones de RNA mensajeros^[20] (figura 1). En el caso de la ruta independiente de *dicer*, se parte de un shRNA (*short hairpin RNA*), una molécula de RNA que forma un pequeño bucle (*loop*) sintetizada artificialmente con el fin de regular la expresión de diversos genes de forma eficaz y estable en el tiempo^[21]. Su longitud no es suficiente para que sea reconocido

por la ribonucleasa *dicer*, por lo que solo sufre corte por parte del complejo microprocesador del núcleo, constituido por las proteínas DGCR8 y *drosha*. En la ruta independiente de complejo microprocesador DGCR8/*drosha*, se parte de un pre-miRNA con una *cap* de 7-metilguanosa (m^7G) en su extremo 5' y sin poli-A que no pasa a través del complejo microprocesador del núcleo. Los miRNA sintetizados a través de esta ruta tienen casi siempre como hebra pasajera a la 5p, es decir, aquella generada a partir del extremo 5' del pri-miRNA, ya que al poseer m^7G en el

extremo 5' (como la mayoría de mRNA en eucariotas) se dificulta la carga de esta hebra en la proteína AGO2 para formar el complejo RISC^[12]. Se piensa que las rutas no canónicas, aunque no supongan el mecanismo principal de síntesis de miRNA, pueden ser útiles en el caso de que se produzcan deleciones de alguna de las enzimas implicadas en las rutas canónicas, como *drosha* o DGCR8^[22], ya que en las rutas no canónicas no es necesaria la presencia de ambas proteínas de forma simultánea.

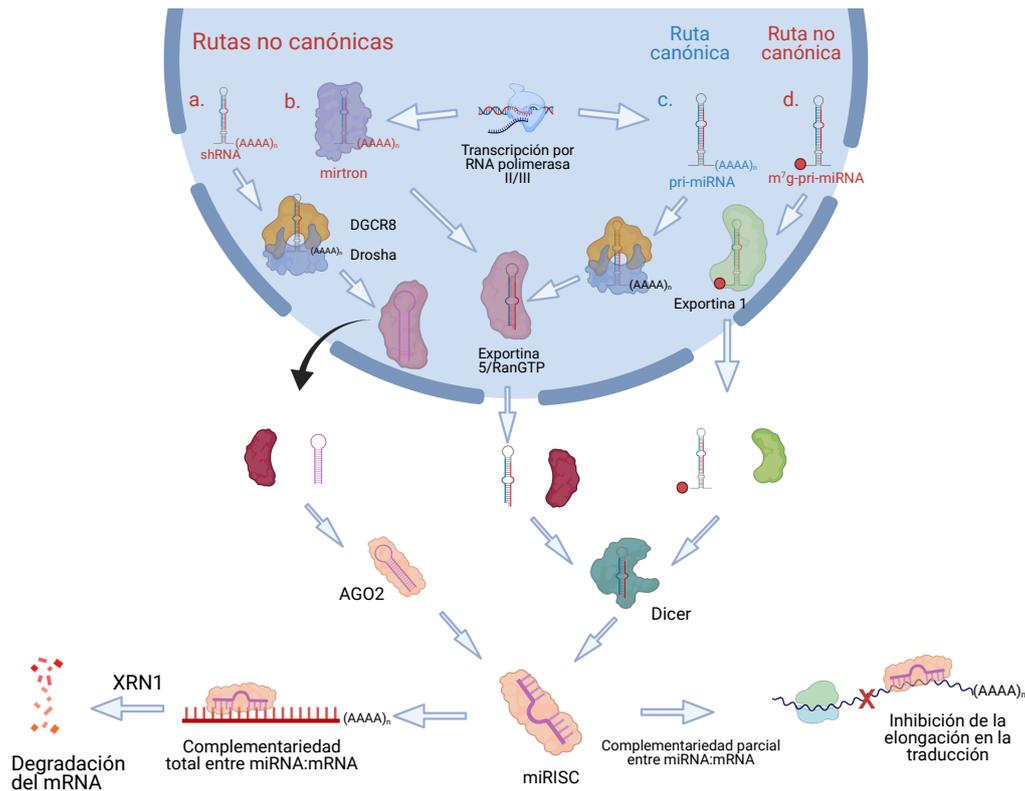


figura 1. Rutas de biosíntesis canónica (c) y no canónicas (a, b y d) de microRNA. En el extremo izquierdo, se representa dos de las rutas de biosíntesis no canónicas: la independiente de *dicer* (a), y la síntesis de mirtrones (b) (independiente de *drosha*/DGCR8). La síntesis canónica de miRNA se representa en la parte derecha (c) junto al otro tipo de ruta no canónica, la síntesis independiente de *drosha* (d), en el extremo derecho. Creado con [biorender.com](https://www.biorender.com). Esquema modificado de: O'Brien, J. et al. (2018)^[10] Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 9, Issue AUG). <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00402>

Mecanismo de acción de los miRNA

Los miRNA maduros ejercen su función en el citosol uniéndose normalmente a la región 3'-UTR (*3'-untranslated region*) del mensajero diana, impidiendo así la expresión génica. Para que tenga lugar esta unión, hay una serie de nucleótidos del miRNA que son esenciales, localizados cerca de su extremo 5', en las posiciones 2-8 (a esta región se la conoce como semilla o *seed*)^[9]. De hecho, la mayor parte de uniones entre la región *seed* y la 3'-UTR del mensajero diana tienen casi siempre una complementariedad de

bases del 100 %, mientras que el resto de la secuencia del miRNA casi nunca es complementaria al mRNA.

Si la complementariedad de bases entre toda la secuencia del miRNA y el mRNA es total, el complejo adquiere una conformación en la cual la proteína AGO1 ejerce su actividad endonucleasa, degradando el mensajero. Si la complementariedad de bases es solo parcial, se lleva a cabo una represión traducional por parte del complejo RISC, impidiendo la elongación durante el proceso de traducción del mRNA por impedimento espacial, y haciendo así que no se exprese la proteína codificada por el mensajero diana^[21].

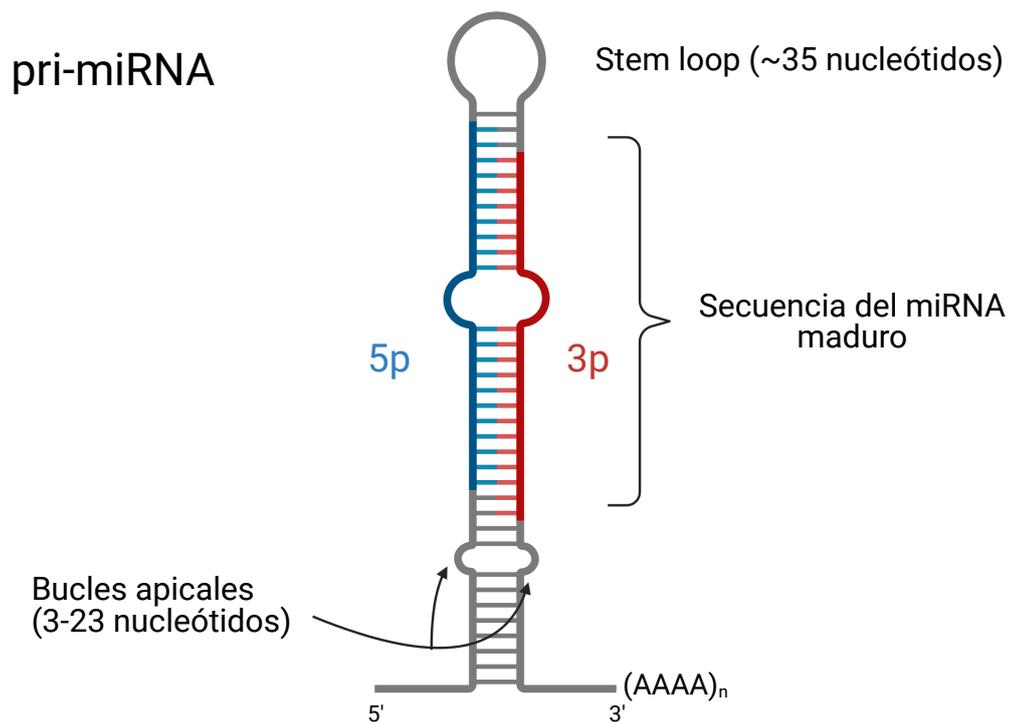


figura 2. Estructura secundaria del *pri*-miRNA. El *pri*-miRNA es el transcrito inicial de las secuencias de DNA que codifican para miRNA. Adquiere una conformación espacial en la que aparecen varios bucles, entre ellos el bucle grande terminal o *stem loop* (en la parte superior), que será reconocido por la ribonucleasa *dicer*, y un par de bucles de menor tamaño situados en posición apical (en la mitad inferior de la figura), que serán reconocidos por *drosha*. Dentro de la secuencia que dará lugar al miRNA maduro, vemos la hebra 5p (en azul), que está más próxima al extremo 5' del *pri*-miRNA, y la 3p (en rojo), que se encuentra más cercana al extremo 3' (con la cola poli-A). Creado con biorender.com

En los últimos años, se ha observado que los miRNA también pueden actuar dentro del núcleo, formando complejos RISC que se cree que difieren ligeramente de los citoplasmáticos en su composición y en la afinidad de unión de sus componentes^[23]. Los complejos RISC nucleares pueden regular la transcripción, el ajuste (*splicing*) alternativo o la expresión de RNA ribosómicos en el nucleolo (figura 3)^[8]. Los miRNA del núcleo son capaces de regular el *splicing* alternativo silenciando genes que codifican para proteínas implicadas en el proceso de corte y empalme de los mensajeros inmaduros, como las proteínas CELF o las CUG-*binding proteins*^[24]. Además, también puede darse la misma regulación modulando la expresión de los genes que codifican las proteínas implicadas en la síntesis de los miRNA. Los miRNA nucleares pueden asimismo regular la expresión de otros RNA reguladores de la expresión génica, los

RNA largos no codificantes (lncRNAs), que llevan a cabo su función a través de mecanismos epigenéticos como la remodelación de la cromatina^[25], estableciéndose así una conexión entre la regulación de la expresión génica por miRNA y la epigenética. Los lncRNA regulan además la expresión de los miRNA uniéndose a ellos por complementariedad de bases, actuando como «esponjas» de miRNA e impidiendo la expresión de los mismos^[26]. Otro ejemplo de regulación miRNA-lncRNA es el de la familia de los miRNA-29, cuyos miembros son capaces de silenciar genes que dan lugar a DNA metiltransferasas (unas enzimas que añaden grupos metilo a las bases de DNA), uniéndose a sus mensajeros. Al no expresarse las DNA metiltransferasas, no se produce la metilación de los promotores de genes que codifican para lncRNA, permitiéndose así la expresión de los mismos^[27].

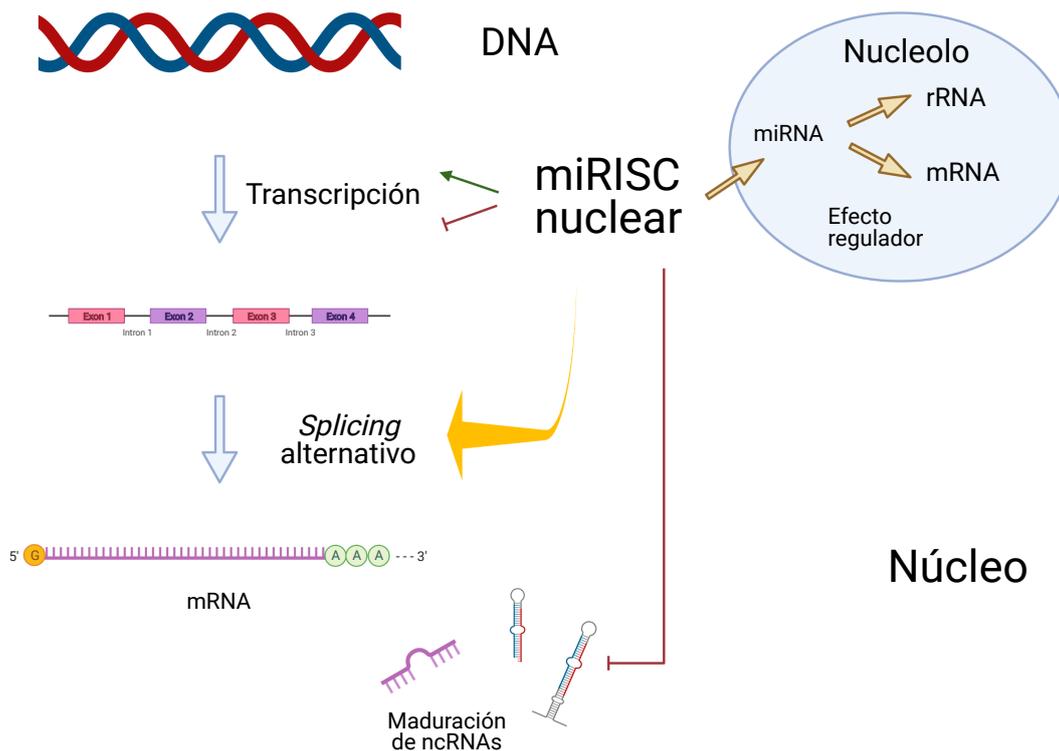


figura 3. Función de los miRNA en el núcleo. Los miRNA pueden ejercer una función activadora o represora de la transcripción de diversos genes, regular el *splicing* alternativo de transcritos o incluso inhibir la maduración de otros RNA no codificantes reguladores de la expresión génica. También se pueden almacenar en el nucleolo, donde llevan a cabo su función regulando la expresión de RNA ribosómicos o de diversos mRNA. Creado con biorender.com. Esquema modificado de: Catalanotto, C. et al. (2016)^[7] MicroRNA in control of gene expression: An overview of nuclear functions. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/ijms17101712>

miRNA circulantes y su relación con enfermedades humanas

Una aproximación muy interesante para el diagnóstico de ciertas enfermedades genéticas humanas es el estudio de los miRNA circulantes en fluidos corporales. Se sabe que algunos miRNA pueden ser secretados al medio extracelular en contextos patológicos y que además son bastante estables^[28] gracias a una serie de mecanismos que los protegen de las numerosas RNasas del plasma sanguíneo, que, aunque su presencia sea necesaria para la defensa ante patógenos o tumores^[29], pueden igualmente degradar los miRNA.

Hay dos tipos principales de miRNA circulantes: los asociados a vesículas, y los no asociados a vesículas^[30]. Los primeros suelen ir empaquetados en vesículas de exocitosis (como su propio nombre indica) llamadas exosomas, o también en microvesículas. Los que no van asociados a vesículas suelen ir unidos a proteínas, como la ya mencionada AGO2, o las proteínas GW182, NPM1, y la lipoproteína de alta densidad (HDL), formando así complejos de ribonucleoproteínas que evitan la degradación del miRNA, como se ha demostrado en varios experimentos^[31].

El proceso de secreción extracelular de miRNA está controlado y se piensa que éstos pueden actuar como mensajeros químicos entre células del sistema inmune o circulatorio^[32]. Además, la endocitosis de miRNA circulantes por parte de las células se suele producir a través de balsas lipídicas, caveolas o regiones de membrana plasmática revestidas por clatrina, lo cual refleja que se trata de un proceso muy regulado^[33]. A pesar de que el estudio de los miRNA se centra sobre todo en cómo estos promueven el silenciamiento génico, se ha visto que también pueden promover la activación de la traducción en células quiescentes^[34] o en situaciones de falta de nutrientes, como por ejemplo cuando hay una baja disponibilidad de aminoácidos [35]. En este caso, los miRNA se unen a mensajeros de genes que codifican para proteínas ribosómicas, promoviendo así su expresión^[35].

Se ha confirmado que los miRNA tienen un papel fundamental en la aparición de enfermedades como el cáncer, en el cual se producen déficits o sobreexpresión de determinados miRNA^[36]. En el caso de la sobreexpresión, los miRNA podrían actuar como oncogenes^[37] a través de la regulación de la expresión de genes implicados en el control del ciclo celular, la diferenciación o la apoptosis. Las células endoteliales, que tienen un papel muy importante en la disemina-

ción de tumores por el mecanismo de la angiogénesis, también presentan perfiles de miRNA alterados durante procesos patológicos^[38], en los que se observa una subida en los niveles de algunos miRNA.

Los perfiles de ciertos miRNA también se ven alterados en desórdenes autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico, en el cual se produce una bajada de los niveles de uno de los miRNA más estudiados en la literatura científica, el miR-146a^[39].

Hay dos tipos de miRNA muy importantes que actúan en conjunto durante la regulación de la respuesta inflamatoria: el miR-146a y el miR-155^[40,41]. El miR-155 actúa al inicio de la respuesta inflamatoria, ya que su expresión tiene como consecuencia la transcripción de genes implicados en la producción de citoquinas durante procesos de estrés celular o infección por patógenos, mientras que el miR-146a se expresa durante las fases finales del proceso inflamatorio, actuando como regulador negativo del mismo y evitando una respuesta inmune exacerbada^[42]. Se ha demostrado que algunos polimorfismos están asociados a la desregulación de estos dos miRNA, dando lugar a procesos neuroinflamatorios crónicos o enfermedades como la esclerosis múltiple^[43], por lo que su uso terapéutico puede ser de gran interés en el futuro^[40]. En concreto, el uso del miR-146a como agente terapéutico podría ser útil para frenar o revertir algunas enfermedades neurológicas relacionadas con procesos inflamatorios patológicos^[40].

Además, la previamente mencionada familia de miRNA-29 es una de las más estudiadas, y se sabe que este tipo de miRNA interviene en la expresión de diversos factores de transcripción, en la respuesta inmune y en la supresión de tumores^[44], por lo que un mayor conocimiento de su funcionamiento podría servir para diseñar nuevos fármacos contra ciertos tipos de cáncer o enfermedades autoinmunes.

La importancia de los miRNA no se limita sólo a estos casos, ya que también se ha demostrado que la expresión de ciertos miRNA es fundamental durante el desarrollo del cerebro y la neurogénesis^[45], por lo que ciertos desórdenes que aparecen a lo largo de la infancia, como el trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH) podrían estar vinculados a alteraciones en los niveles de ciertos miRNA^[46], como los miR-18a-5p, miR-22-3p, miR-24-3p o miR-155-5p, lo que podría alterar la plasticidad sináptica y el neurodesarrollo a nivel molecular.

La detección de los niveles de miRNA en muestras de pacientes se puede realizar mediante el uso de tecnologías de secuenciación, *Next-Generation Sequencing* (NGS), como el RNA-seq. La interpretación y análisis de los datos obtenidos pueden llevarse a cabo mediante herramientas computacionales como

miRSeq, que permite elaborar perfiles de miRNA en cualquier especie animal^[47] combinando datos de secuenciación con información de secuencias de miRNA almacenadas en bases de datos como miR-Base^[48]. Las lecturas generadas durante el proceso de secuenciación se alinean con las secuencias de miRNA presentes en la base de datos para determinar cuáles se están expresando y en qué niveles. Este procedimiento permite utilizar los miRNA como biomarcadores de enfermedades, como aquellas relacionadas con desequilibrios en la regulación de la expresión génica, incluyendo diversos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y autoinmunes, entre otras^[49].

Además, en estos últimos años se está empezando a desarrollar terapia génica basada en RNA interferente (como es el miRNA) y existen fármacos en fase experimental e incluso ya aprobados que tienen como diana terapéutica a distintos RNA mensajeros. Un buen ejemplo es Patisiran^[50], el primer fármaco basado en RNA interferente aprobado por la FDA en 2018, que hace de análogo de miRNA y cuyo RNA diana es el mensajero del gen que codifica la transtiretina, una proteína que está mutada en pacientes que padecen de amiloidosis hereditaria mediada por transtiretina. El silenciamiento de este gen es beneficioso para los pacientes de esta enfermedad, ya que reduce los niveles de unas fibrillas amiloides que se forman en los tejidos debido a agregados de transtiretina mal plegada por la mutación de este gen^[51]. También existen otros tratamientos que no se basan en análogos de miRNA (o *miRNA-mimics* en inglés), sino que tienen como diana a los propios miRNA, a los cuales se unen impidiendo su función (en este caso, hablamos de inhibidores de miRNA o *antagomirs*). Dentro de este grupo, destaca Miravirsin, un oligonucleótido antisentido de 15 nucleótidos complementario al miR-122 humano, el miRNA más abundante en el tejido hepático^[52]. La expresión del miR-122 es esencial para que el virus de la hepatitis C (*HCV*) sea capaz de infectar a los hepatocitos, por lo que se están llevando a cabo ensayos clínicos con *Miravirsin* como fármaco contra el *HCV*, que actualmente se encuentra en fase 2 de desarrollo^[53]. Uno de los mayores retos en el desarrollo de terapias basadas en *miRNA-mimics/antagomirs* es la forma de administración de estos fármacos, que hoy en día se realiza principalmente por inyección intravenosa o subcutánea^[54], lo cual requiere de personal sanitario cualificado. Además, se debe asegurar que el fármaco actúe sobre los tejidos que lo requieran y que sean lo más específicos posible al actuar sobre los RNA celulares sin alterar otros RNA no diana. Para abordar estos problemas, se están desarrollando nuevos

sistemas de *delivery* o vehiculización de estos medicamentos, como pueden ser el uso de nanopartículas lipídicas o vectores virales (virus modificados que se pueden utilizar para transportar ácidos nucleicos hasta las células)^[55] con el fin de facilitar la administración del fármaco en un tejido específico, evitar su degradación en el torrente sanguíneo y evitar que posean una inmunogenicidad excesiva (es decir, que puedan causar reacciones inmunes severas que tengan efectos dañinos para el organismo).

Conclusión

Los miRNA son moléculas implicadas en el mecanismo de regulación de la expresión génica, complementario a otros como pueden ser la actividad de factores de transcripción, la estabilización y procesamiento de los mensajeros o la regulación epigenética.

Un mayor conocimiento sobre los miRNA, la alteración de sus niveles de expresión y su asociación con diversas enfermedades puede mejorar la comprensión de los procesos moleculares implicados en la regulación de la expresión génica en determinados contextos, como desequilibrios en el balance de los miRNA que den lugar a alteraciones fenotípicas. Del mismo modo, se pueden encontrar aplicaciones muy interesantes de los miRNA en terapia génica, como el uso de RNA de interferencia o *antagomirs*, que actúan sobre los RNA celulares. Todo esto puede suponer un avance en el tratamiento de enfermedades que actualmente no tienen cura o para mejorar el pronóstico de las mismas.

Referencias

- [1] Greber, B. J. y Nogales, E. The Structures of Eukaryotic Transcription Pre-initiation Complexes and Their Functional Implications. *Subcellular Biochemistry* (Vol. 93, pp. 143–192), 2019.
- [2] Wu, J. y otros. Ribogenomics: The Science and Knowledge of RNA. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 12(2), 57–63, 2014.
- [3] Li, C. y Chen, Y. Small and Long Non-Coding RNAs: Novel Targets in Perspective Cancer Therapy. *Current Genomics*, 16(5), 2015.
- [4] Lu TX y Rothenberg ME. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol.* 141(4):1202-1207, 2018.
- [5] Matsuyama, H. y Suzuki, H. I. Systems and synthetic microRNA biology: From biogenesis to disease pathogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 1), 2020.
- [6] Wang, J. y otros. Plant microRNAs: Biogenesis, homeostasis, and degradation. *Frontiers in Plant Science* (Vol. 10), 2019.
- [7] Hussain, M. U. Micro-RNAs (miRNAs): Genomic organization, biogenesis and mode of action. *Cell and Tissue Research* (Vol. 349, Issue 2), 2012.
- [8] Catalanotto, C. y otros. MicroRNA in control of gene expression: An overview of nuclear functions. *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 10), 2016.
- [9] Shu, J. y otros. Dynamic and modularized MicroRNA regulation and its implication in human cancers. *Scientific Reports*, 7(1), 2017.
- [10] Kozomara, A. y Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Research*, 42, 2013.
- [11] Gebert, L. F. R. y MacRae, I. J. Regulation of microRNA function in animals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 20, Issue 1), 2019.
- [12] O'Brien, J. y otros. Overview of microRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 9, Issue AUG), 2018.
- [13] Lai, X. y Vera, J.. MicroRNA Clusters. *Encyclopedia of Systems Biology* (pp. 1310–1314), 2013.
- [14] Adams, L. Non-coding RNA: Pri-miRNA processing: Structure is key. *Nature Reviews Genetics* (Vol. 18, Issue 3), 2017.
- [15] Kwon, S. C. y otros. Structure of Human DROSHA. *Cell*, 164(1–2), 81–90, 2016.
- [16] Miyoshi, K. y otros. Characterization of the miRNA-RISC loading complex and miRNA-RISC formed in the Drosophila miRNA pathway. *RNA*, 15(7), 1282–1291, 2009.
- [17] Fabian, M. R. y Sonenberg, N. The mechanics of miRNA-mediated gene silencing: A look under the hood of miRISC. *Nature Structural and Molecular Biology* (Vol. 19, Issue 6, pp. 586–593), 2012.
- [18] Abdelfattah, A. M. y otros. Update on non-canonical microRNAs. *Biomolecular Concepts* (Vol. 5, Issue 4, pp. 275–287), 2014.
- [19] Stavast, C. J. y Erkeland, S. J. The Non-Canonical Aspects of MicroRNAs: Many Roads to Gene Regulation. *Cells* (Vol. 8, Issue 11), 2019.
- [20] Da Fonseca, B. H. R. y otros. MirtronDB: A mirtron knowledge base. *Bioinformatics*, 35(19), 3873–3874, 2019.
- [21] Tsujiuchi, T. y otros. RNA Interference Therapeutics for Tumor Therapy: Promising Work in Progress. *Gene Therapy of Cancer: Translational Approaches from Preclinical Studies to Clinical Implementation: Third Edition* (pp. 393–408), 2013.
- [22] Jo, M. H. y otros. Human Argonaute 2 Has Diverse Reaction Pathways on Target RNAs. *Molecular Cell*, 59(1), 2015.
- [23] Gagnon, K. T. y otros. RNAi factors are present and active in human cell nuclei. *Cell Reports*, 6(1), 211–221, 2014.
- [24] Kucherenko, M. M. y Shcherbata, H. R. miRNA targeting and alternative splicing in the stress response - Events hosted by membrane-less compartments. *Journal of Cell Science* (Vol. 131, Issue 4), 2018.
- [25] Liang, H. y otros. Nuclear microRNAs and their unconventional role in regulating non-coding RNAs. *Protein and Cell* (Vol. 4, Issue 5), 2013.
- [26] Huang, Y. The novel regulatory role of lncRNA-miRNA-mRNA axis in cardiovascular diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* (Vol. 22, Issue 12, pp. 5768–5775), 2018.
- [27] Braconi, C. y otros. MicroRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer. *Oncogene*, 30(47), 4750–4756, 2011.

- [28] Glinge, C. y otros. Stability of circulating blood-based microRNAs-Pre-Analytic methodological considerations. *PLoS ONE*, 12(2), 2017.
- [29] Boix, E. y otros. Editorial: Role of Ribonucleases in Immune Response Regulation During Infection and Cancer. *Frontiers in Immunology* (Vol. 11), 2020.
- [30] Cui, M. y otros. Circulating MicroRNAs in Cancer: Potential and Challenge. *Frontiers in Genetics*, 10, 2019.
- [31] Montani, F. y Bianchi, F. Circulating Cancer Biomarkers: The Macro-revolution of the Micro-RNA. *EBioMedicine* (Vol. 5), 2016.
- [32] Zhu, J. J. y otros. VAMP3 and SNAP23 mediate the disturbed flow-induced endothelial microRNA secretion and smooth muscle hyperplasia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(31), 2017.
- [33] Tian, T. y otros. Exosome uptake through clathrin-mediated endocytosis and macropinocytosis and mediating miR-21 delivery. *Journal of Biological Chemistry*, 289(32), 2014.
- [34] Truesdell, S. S. y otros. MicroRNA-mediated mRNA translation activation in quiescent cells and oocytes involves recruitment of a nuclear microRNP. *Scientific Reports*, 2, 2012.
- [35] Chen, B. y otros. Roles of microRNA on cancer cell metabolism. *Journal of Translational Medicine* (Vol. 10, Issue 1), 2012.
- [36] Costa, C. y otros. MicroRNAs alteration as early biomarkers for cancer and neurodegenerative diseases: New challenges in pesticides exposure. *Toxicology Reports*, 7, 759–767, 2020.
- [37] Syeda, Z. A. y otros. Regulatory mechanism of microrna expression in cancer. *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Issue 5), 2020.
- [38] Tiwari, A. y otros. MicroRNA Key to Angiogenesis Regulation: MiRNA Biology and Therapy. *Current Cancer Drug Targets*, 18(3), 266–277, 2017.
- [39] Fan, Y., Ji, Y. y otros. Relationship of miRNA-146a to systemic lupus erythematosus: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*, 99(40), e22444, 2020.
- [40] Fan, W. y otros. MicroRNA-146a Is a Wide-Reaching Neuro-inflammatory Regulator and Potential Treatment Target in Neurological Diseases. *Frontiers in Molecular Neuroscience* (Vol. 13), 2020.
- [41] Mahesh, G. y Biswas, R. MicroRNA-155: A Master Regulator of Inflammation. *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 39, Issue 6, pp. 321–330), 2019.
- [42] Javidan, A. y otros. miR-146a Deficiency Accelerates Hepatic Inflammation Without Influencing Diet-induced Obesity in Mice. *Scientific Reports*, 9(1), 2019.
- [43] Maciak, K. y otros. Mir-155 as an important regulator of multiple sclerosis pathogenesis. A review. *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 9), 2021.
- [44] Schmitt, M. J. y otros. MiRNA-29: A microRNA Family with Tumor-Suppressing and Immune-Modulating Properties. *Current Molecular Medicine*, 13(4), 572–585, 2013.
- [45] Wang, Z. y otros. Inhibition of miRNA-27b enhances neurogenesis via AMPK activation in a mouse ischemic stroke model. *FEBS Open Bio*, 9(5), 859–869, 2019.
- [46] Srivastav, S. y otros. Emerging role of miRNA in attention deficit hyperactivity disorder: a systematic review. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders* (Vol. 10, Issue 1, pp. 49–63), 2018.
- [47] Pan, C. T. y otros. MiRSeq: A user-friendly standalone toolkit for sequencing quality evaluation and miRNA profiling. *BioMed Research International*, 2014.
- [48] Kozomara, A. y otros. MiRBase: From microRNA sequences to function. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D155–D162, 2019.
- [49] Pereira-da-Silva, T. y otros. Circulating microRNA profiles in different arterial territories of stable atherosclerotic disease: a systematic review. *American Journal of Cardiovascular Disease*, 8(1), 2018.
- [50] Hanna, J. y otros. The potential for microRNA therapeutics and clinical research. *Frontiers in Genetics* (Vol. 10, Issue MAY), 2019.
- [51] Yang, J. Patisiran for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 12(2), 95–99, 2019.
- [52] Momen-Heravi, F. y Bala, S. The miRNA and Extracellular Vesicles in Alcoholic Liver Disease. *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition: A Volume in the Molecular Nutrition Series* (pp. 275–286), 2016.
- [53] Bonneau, E. y otros. How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (Vol. 30, Issue 2), 2019.
- [54] Chakraborty, C. y otros. Therapeutic advances of miRNAs: A preclinical and clinical update. *Journal of Advanced Research* (Vol. 28, pp. 127–138), 2021.
- [55] Ramaiah, M. J. Functions and epigenetic aspects of miR-15/16: Possible future cancer therapeutics. *Gene Reports* (Vol. 12, pp. 149–164), 2018.