

[r e v i s i ó n]

Aportación de los microARNs al diagnóstico pronóstico y tratamiento del paciente con obesidad

Taís Silveira Assmann, PhD^{1,2}, Alberto Dávalos, PhD³, J. Alfredo Martínez, PhD^{3,4}

¹Endocrine Division, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

²Postgraduate Program in Medical Sciences: Endocrinology, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

³Programa de Nutrición Personalizada en la Enfermedad Cardiometabólica,

Instituto Madrileño de Estudios Avanzados (MDEA)-Alimentación, CEI UAM + CSIC, 28049 Madrid, Spain.

⁴CIBEROBN (Physiopathology of Obesity and Nutrition CB12/03/30038), 28029 Madrid, Spain.

Palabras clave

microARN, microARN circulante, diana terapéutica, obesidad, biomarcadores.

>>RESUMEN

Los microARNs (miARNs o miR) son moléculas de ARN no codificantes compuestas normalmente por 19-25 nucleótidos, que regulan la expresión génica y desempeñan un papel central en la regulación genómica de varios trastornos metabólicos, incluida la obesidad. Recientemente, los miARNs han ganado atención no solamente como reguladores de procesos biológicos sino también como biomarcadores de pronóstico en el tratamiento de la obesidad y diseño de dianas terapéuticas. Por tanto, esta revisión resume críticamente los hallazgos disponibles en la literatura científica, destacando los principales miARNs asociados con la obesidad.

gog disponibles en la literatura científica, destacando los principales miARNs asociados con la obesidad.

Nutr Clin Med 2022; XVI (1): 47-64

DOI: 10.7400/NCM.2022.16.1.5108

Key words

microRNAs, circulating microRNAs, obesity, therapeutic target, biomarkers.

<<ABSTRACT

MicroRNAs (miRNAs, miRs) are non-coding RNA molecules composed of 19-25 nucleotides that regulate gene expression and play a central role in the genomic regulation of several metabolic disorders, including obesity. Recently miRNAs have gained much attention not only as regulators of biological processes but also as prognostic biomarkers of obesity management. Thus, the present review summarized the available findings in this field, highlighting

the main miRNAs associated with obesity.

Nutr Clin Med 2022; XVI (1): 47-64

DOI: 10.7400/NCM.2022.16.1.5108

Correspondencia

J. Alfredo Martínez

Email: jalfredo.martinez@imdea.org

Taís Silveira Assmann

taisassmann@hotmail.com

>>INTRODUCCIÓN

La obesidad es una epidemia mundial que surge como un desequilibrio termodinámico crónico entre la ingesta de calorías y el gasto energético^{1,2}. A pesar de las intervenciones nutricionales y los programas de actividad física, la prevalencia de la obesidad sigue aumentando y se espera que alrededor de 600 millones de personas en todo el mundo tengan obesidad en 2025². En este contexto, las estrategias convencionales para el control del peso y la reducción de la masa grasa comprenden la restricción energética de la dieta y un mayor gasto energético mediante promoción de la actividad física³. La variabilidad en la respuesta de pérdida de peso también puede atribuirse a factores epigenéticos modulados por aspectos sociales/ambientales^{4,5}.

Entre los mecanismos epigenéticos reconocidos encontramos los microARNs (miARNs o miR) que son una clase de pequeños ARN no codificantes de proteínas que regulan la expresión génica⁶. Estas moléculas tienen funciones bien conocidas en la regulación de varios procesos biológicos, incluida la diferenciación celular, la proliferación, el metabolismo, el envejecimiento y la apoptosis⁶. Además, se estima que los miARNs regulan la expresión de más del 60% de los genes codificadores de proteínas⁷; consecuentemente, los cambios en la expresión de miARN se han asociado con procesos fisiopatológicos, incluyendo la obesidad⁸⁻¹⁰. Mientras algunos miARNs se expresan notablemente en varios tejidos del cuerpo, un subgrupo de miARNs se encuentra circulando en los fluidos biológicos^{11,12}. Algunos de ellos pueden ser transportados en forma activa a otros tejidos, aumentando la posibilidad de participación de miARNs en un modo de comunicación de célula a célula¹³.

De hecho, se ha descrito el papel de algunos miARNs en la obesidad^{14,15}, donde se ha reportado que los miARNs miR-103, miR-107 y miR-143 regulan la sensibilidad a la insulina hepática en la obesidad inducida por la dieta¹⁶, mientras que el miR-375 se expresa en las células endocrinas pancreáticas y regula la secreción de insulina¹⁷. Los miARNs también regulan las funciones de tejido adiposo blanco mediante la regulación de la diferenciación de adipocitos, incluyendo miR-27¹⁸ y la sensibilidad a la insulina de los adipocitos maduros (miR-103)^{16,19}. Además, se ha

descrito que el perfil de miARNs circulantes es diferente entre sujetos con obesidad e individuos eutróficos^{14,20}.

La funcionalidad de los miARNs y su importancia en la biología del tejido adiposo sugiere dos aplicaciones prometedoras en el campo de la obesidad. En primer lugar, los miARNs pueden ser utilizados como biomarcadores de susceptibilidad, pronóstico o respuesta al tratamiento^{14,21}. En segundo lugar, los miARNs podrían utilizarse como una estrategia terapéutica en la obesidad²². Por lo tanto, esta revisión resume críticamente los hallazgos disponibles en el campo, destacando los principales miARNs asociados con la obesidad, disponibles en la literatura científica, incluyendo los experimentos en modelos animales e intervención en humanos.

>>BIOGÉNESIS DE MICROARNs

Los miARNs son pequeñas moléculas de ARN monocatenario no codificantes de 19 a 25 nucleótidos cuya función principal es la represión de la traducción mediante el apareamiento parcial con la región 3' no traducida de los ARNm diana. Estos reguladores de la expresión génica se descubrieron primero en *Caenorhabditis elegans* y, luego, en vertebrados y plantas⁶. Estas moléculas se producen a partir de ARN precursores de tallo-bucle generados a partir de unidades transcripcionales independientes o de intrones de genes que codifican proteínas. Estos transcritos primarios (pri-miARN) se procesan inicialmente para producir moléculas de ARN cortas (pre-miARN) y luego se exportan al citoplasma donde se escinden aún más para generar las formas maduras de miARN^{6,23,24} (fig. 1). Los miARNs maduros pueden incluirse en el complejo de silenciamiento inducido por ARN (miRISC) para guiar la represión traduccional de los ARNm diana o ser liberados por las células^{6,23}.

Los miARNs liberados se encuentran en la circulación adheridos a proteínas o lipoproteínas o cargados dentro de vesículas (ejem. exosomas) que se liberan al espacio extracelular durante la formación de ampollas en la membrana plasmática o después de la fusión de cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática (fig. 1). Los miARNs se pueden "empaquetar" dentro de estructuras llamadas vesículas extracelulares

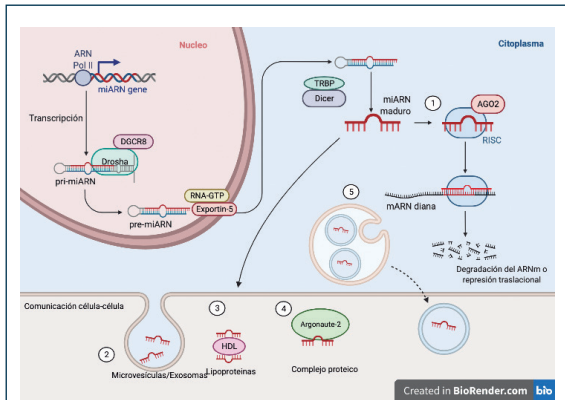


Figura 1. Biogénesis de microARN. En el núcleo, los pre-miARN son generados por la enzima ribonucleasa III Drosha después de la escisión de los pri-miARN. Los pre-miRNA se transportan al citoplasma a través de un proceso en el que participan Exportin 5 y el RNA-GTP y luego se escinden por Dicer/TRBP para producir el miARN maduro de 21-23 nucleótidos. El miARN maduro puede asociarse al complejo RISC y guiar la represión traduccional de los ARNm diana¹ o ser liberado por las células. En este último caso, los miARN se pueden cargar en microvesículas formadas por ampollas de la membrana plasmática², se unen a proteínas de unión al ARN como las lipoproteínas³ o Argonaute-2 (AGO2)⁴. Alternativamente, los miARN se pueden liberar en el espacio extracelular tras la fusión exocítica de cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática⁵. La transferencia de miARN entre células distantes constituye un modo de comunicación potencialmente nuevo. Pri-miARN: miARN primario, Pre-miARN: miARN precursor, ARN: ácido ribonucleico, miARN: microARN. Figura adaptada de⁶⁷. Creada con BioRender.com.

(VEs)²⁵. Las VEs facilitan el tráfico de miARN a órganos distales y/o células mediante endocitosis mediada por receptores, fagocitosis o fusión directa con la membrana plasmática de las células diana. Los principales conceptos en biogénesis de miARNs están en la tabla I.

>> MICROARNs Y PATOGÉNESIS DE LA OBESIDAD

Los estudios *in silico* y experimentales han demostrado que los miARNs podrían desempeñar funciones reguladoras en muchos procesos biológicos asociados con la obesidad, incluyendo la diferenciación de adipocitos, la vía de señalización de la insulina y el metabolismo de lípidos o carbohidratos^{26,27}.

Los miARNs están “desregulados” en tejidos metabólicos de animales y humanos con obesidad, lo que potencialmente podría contribuir a la patogénesis de las complicaciones asociadas a la obesidad^{20,51}. Los miARNs modulan no solo el tamaño de la masa grasa, sino también las con-

secuencias fisiopatológicas de la obesidad y el metabolismo del tejido adiposo⁵. Un conjunto de miARNs (miR-103, miR-107 y miR-143) se inducen durante la adipogénesis (que puede acelerar el desarrollo de las células grasas), pero se regulan negativamente en el estado de obesidad⁵⁴.

Varios estudios han demostrado que los miARNs están involucrados en la regulación de la adipogénesis, actuando como estimuladores (efectos pro-adipogénicos; miR-21, miR-26b, miR-30, miR-103, miR-124, miR-143, miR-148, miR-181a, miR-199a, miR-375, miR-378) o inhibidores (es decir, let7, miR-22, miR-125a, miR-224, miR-302a, miR-371) de los programas de diferenciación de adipocitos humanos, con diferencias en el perfil de expresión en tejido adiposo subcutáneo y visceral^{8,28}.

Algunos investigadores como He *et al.*²⁹, examinaron los posibles mecanismos moleculares que subyacen a la obesidad a través de la integración de *loci* genéticos asociados a la obesidad derivados de un meta-análisis del estudio de asociación de todo el genoma (*Genome-wide association study*, GWAS) para el índice de masa corporal (IMC), la expresión génica y los perfiles de miARNs en muestras de tejido adiposo provenientes de 200 sujetos con obesidad. Como resultado principal, los autores identificaron un eje molecular que involucra hipoxia/glicerol-3-fosfato deshidrogenasa 1 similar (*GPD1L*)/miR-210 que podría estar relacionado con la acumulación de grasa y la obesidad. Por otra parte, *GPD1L* es un regulador de la estabilidad del factor 1 alfa inducible por hipoxia (HIF-1 α) y un objetivo validado de miR-210, un regulador maestro de la hipoxia³⁰. Además, una dieta baja en calorías fue capaz de inducir una reducción relativa en el estado hipóxico y los niveles de miR-210, en paralelo con un aumento de los niveles de *GPD1L*^{21,29}. Se ha asociado también al miR-522 con variantes del gen *Plin4* y fenotipos relacionados a la obesidad a través de la creación de nuevas semillas de interacción entre el miARN y el gen por los polimorfismos de nucleótido único (SNP)³¹.

>> MICROARNs Y EL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo es un órgano endocrino complejo que secreta no solo hormonas y citocinas, sino también una gran cantidad de miARNs circulantes, que pueden regular la expresión génica

TABLA I. CONCEPTOS BÁSICOS DE LA BIOGÉNESIS DE MIARNs

pri-miARN (miARN primario)	– El primer paso en la maduración de miARN es la transcripción de una cadena larga de miARN primario (pri-miARN) de un gen particular en el núcleo
Drosha	– Drosha es una enzima ribonucleasa III de clase 2. El complejo enzimático formado por Drosha y su cofactor esencial, la proteína de unión DGCR8 (proteína de la región crítica del síndrome de DiGeorge 8) es responsable de escindir el pri-miARN, liberando regiones precursoras, llamadas pre-miARNs
Pre-miARN (miARN precursor)	– El microARN precursor (pre-miARN) se forma en el núcleo por escisión de pri-miARN. El pre-miARN tiene aproximadamente 70 pares de bases y contiene un tramo de doble hebra y un bucle de hebra simple, formando una estructura básica
Exportin-5	– Exportin-5 es una proteína codificada por el gen <i>XPO5</i> y pertenece a la familia de factores de transporte carioferina β . En las células eucariotas, el propósito principal de exportin-5 es exportar pre-microARN fuera del núcleo y dentro del citoplasma, para su posterior procesamiento por la enzima Dicer
Dicer	– La enzima DICER es una ARNasa III que evalúa los extremos 3' y 5' del pre-miARN, generando el miARN maduro. El procesamiento de pre-miARN por Dicer promueve el desenrollado del dúplex de ARN en horquilla
microARN (miARN o miR)	– Los miARNs son moléculas pequeñas, no codificantes, de ácido ribonucleico (ARN) endógeno de aproximadamente 22 nucleótidos que actúan como reguladores de la expresión génica a nivel postranscripcional a través de la escisión de un ARN diana o mensajero (ARNm) o de la represión de la traducción
miR	– Prefijo de las formas maduras de microARN, seguido de un guión y un número de identificación único (miR-1)
Argonauta 2 (AGO2)	– Las proteínas llamadas argonautas se componen de dos dominios, el PAZ que puede unirse a la porción 3' de la hebra única de miARN maduro y el dominio PIWI que es estructuralmente similar a la ribonucleasa-H e interactúa con la porción 5' de la hebra guía. Estos dominios se unen al miARN maduro y guían la interacción con el ARNm diana
Complejo de silenciamiento inducido por ARN (miRISC)	– miRISC es un complejo de ribonucleoproteína. En su forma madura, los miARNs, con la ayuda de un complejo enzimático RISC, se unen al ARNm diana
Semillas de interacción	– La secuencia de semilla o región de semilla es una secuencia heptamétrica conservada que está situada principalmente en las posiciones 2-7 del extremo 5' del miARN. Aunque el emparejamiento de bases de miARN y su ARNm diana no coincide perfectamente, la "secuencia semilla" tiene que ser perfectamente complementaria
Microvesículas e Exosomas	– Los exosomas y las microvesículas forman parte de las vesículas extracelulares. Estos son producidos y liberados por una variedad de tipos de células, incluidos los sobrenadantes de los medios celulares, y están presentes en diferentes fluidos biológicos
	– Los exosomas son vesículas de 30-90 nm secretadas al medio extracelular por varios tipos de células de mamíferos. Los exosomas secretados por las células tanto en condiciones normales como patológicas contienen proteínas funcionales y moléculas de ARN que incluyen ARNm y miARN, que pueden transportarse de una célula a otra, lo que afecta la producción de proteínas en la célula receptora
Intrones de genes	– Los miARNs se sintetizan a partir de genes específicos o de ciertas regiones de genes que no están asociados con la producción de proteínas (intrones)

(Continúa)

TABLA I. CONCEPTOS BÁSICOS DE LA BIOGÉNESIS DE MIARNs (CONT.)

GWAS	En genética, un estudio de asociación de genoma completo (en inglés GWAS, <i>Genome-wide association study</i> o WGAS, <i>Whole genome association study</i>) es un análisis de una variación genética en todo el genoma humano con el objetivo de identificar si alguna variante está asociada con un rasgo. asociaciones entre polimorfismos de un solo nucleótido (en inglés SNP, <i>single nucleotide polymorphisms</i>) y enfermedades
Estudios <i>in silico</i>	<i>In silico</i> es una expresión utilizada en el campo de la simulación por computadora y áreas relacionadas para indicar algo que ocurrió "en o a través de una simulación por computadora"

ca en tejidos distantes³². Los adipocitos también pueden usar vesículas extracelulares (ejem. exosomas) cargadas de miARNs para comunicarse de manera paracrina. Por ejemplo, los miARNs de VE derivados del tejido adiposo pueden actuar como mensajeros endocrinos que facilitan la comunicación que va desde las células cercanas a otros tejidos y, por lo tanto, pueden considerarse un nuevo tipo de adipocina³³. Los adipocitos transfieren a los pequeños adipocitos un conjunto de miARNs (miR-16, miR-27a, miR-146b y miR-222) que promueven la lipogénesis en las células receptoras y, por lo tanto, contribuyen a un patrón más extendido de acumulación de lípidos dentro del tejido³⁴.

El papel integral de los miARNs en el tejido adiposo surge de estudios que demuestran que la inhibición de Droscha y Dicer en células madre mesenquimales humanas inhibió la diferenciación en adipocitos, mientras que la ausencia de Dicer en células 3T3-L1 no altera la adipogénesis, pero si la diferenciación³⁵. Dicer tiene un papel central en los pasos finales de la vía de procesamiento de miARN (fig. 1). El *knockout* específico de Dicer en el tejido adiposo en ratones, así como en humanos con lipodistrofia, disminuyó significativamente los niveles circulantes de miARNs exosomales³², lo que sugiere que el tejido adiposo es un órgano secretor de una gran cantidad de miARNs circulantes.

Los adipocitos aumentan la biosíntesis y secreción de VE durante la obesidad inducida por la dieta³⁶, lo que puede contribuir a los niveles más altos de VE que se encuentran en el torrente sanguíneo de pacientes con obesidad y con diabetes tipo 2^{14,37-39}. Los niveles de miR-34a aumentan en el tejido adiposo visceral, tanto en ratones obesos como en individuos con sobrepeso u obesidad. Asimismo, miR-34a es secretado por los adipocitos en respuesta a la obesidad y aumenta en la sangre de ratones obesos^{14,40}. La deficiencia de miR-34a

en adipocitos, induce un fenotipo anti-inflamatorio en los macrófagos (cambiando el fenotipo pro-inflamatorio similar a M1- la población M1 se caracteriza por ser pro inflamatoria, causando daño tisular) al fenotipo antiinflamatorio activado (alternativamente), protegiendo a los ratones de la intolerancia a la glucosa inducida por la dieta, la resistencia a la insulina y la inflamación sistémica, a través de la expresión disminuida de un factor de transcripción, el factor 4 similar a Krüppel (*KLF4*), en los macrófagos del tejido adiposo⁴⁰.

Ciertos miARNs adicionales derivados de adipocitos parecen facilitar la polarización de macrófagos de tipo M1 a través de su acción paracrina. Por ejemplo, la obesidad indujo un desequilibrio en la polarización de los macrófagos en el tejido adiposo a través de la regulación positiva de miR-155, lo que provocó inflamación crónica y resistencia a la insulina. La deficiencia total de miR-155 en ratones mitiga los efectos deletéreos de una dieta rica en grasas⁴¹. En consecuencia, la inflamación asociada a la obesidad indujo la expresión de miR-155 en los adipocitos, lo que resultó en un aumento del estado inflamatorio en estas células⁴². Así, los pacientes pre-diabéticos y con diabetes tipo 2 tienen niveles séricos más bajos de miR-155⁴³. Por el contrario, en un modelo murino de obesidad, la expresión de miR-27a se incrementó y promovió una polarización de macrófagos similar a M1, que regula la resistencia a la insulina de los adipocitos⁴⁴, además de actuar como represor de la diferenciación de adipocitos 40 y activador de vías pro-inflamatorias⁴⁵. Además, miR-130b también contribuye a la inflamación del tejido adiposo asociada a la obesidad y la resistencia a la insulina en roedores con diabetes⁴⁶.

Algunos estudios han comparado los perfiles de miARNs en depósitos de grasa viscerales y subcutáneos, lo que sugiere algunas similitudes y diferencias entre dichos tejidos^{33,47}. Una distinta

expresión de miARNs podrían contribuir a las diferencias intrínsecas entre el tejido adiposo visceral y subcutáneo. Además, la expresión de miARNs en el tejido adiposo humano se correlaciona con el fenotipo de los adipocitos, los parámetros de obesidad y el metabolismo de la glucosa⁴⁷.

Un ensayo de expresión génica de miARN global en tejido adiposo omental, abdominal subcutáneo, e intraabdominal de individuos con sobrepeso y obesidad ha identificado la expresión diferencial de 106 miARNs en tejido adiposo omental y subcutáneo humano, aunque no se describieron miARNs expresados exclusivamente en ninguno de los depósitos de grasa. Sin embargo, dieciséis miARNs mostraron un patrón de expresión específico diferencial en los depósitos de grasa. Además, se identificaron asociaciones significativas entre la expresión de miR-17-5p, miR-132, miR-99a, miR-134, miR-181a, miR-145, miR-197 y la morfología del tejido adiposo y los parámetros metabólicos claves, incluyendo el área de grasa visceral, hemoglobina glucosilada (HbA1c), glucosa, y niveles circulantes de leptina, adiponectina e interleucina-6. Por tanto, las diferencias en la expresión de miARNs pueden contribuir a procesos intrínsecos propios para el tejido adiposo omental y subcutáneo⁴⁷.

De la misma manera, la expresión de varios miARNs está “desregulada” en el tejido adiposo blanco del epidídimo de ratones ob/ob y alimentados con una dieta rica en grasas ya que se encontraron dos miARNs (miR-200a y miR-200b) regulados a la baja, mientras que tres miARNs (miR-342-3p, miR-335-5p y miR-335-3p) aumentaron en el tejido adiposo de ratones obesos. Es importante destacar que se observó una expresión alterada de manera similar de miR-200a y miR-200b en pacientes diabéticos con obesidad. Es más, el fraccionamiento celular del tejido adiposo de ratón reveló que los miARN se expresan diferencialmente en los adipocitos y en subpoblaciones de la fracción del estroma vascular, observándose una expresión celular específica de la expresión de miARN en el tejido adiposo blanco en condiciones de obesidad⁴⁸.

En este contexto, un estudio ha sugerido la existencia de un perfil de expresión de miARNs diferente en tejido adiposo subcutáneo y en tejido adiposo visceral en mujeres con obesidad sometidas a *bypass* gástrico. Varios miARNs: miR-23a-5p, miR-27a-5p, miR-200c-3p, miR-223-3p, miR-

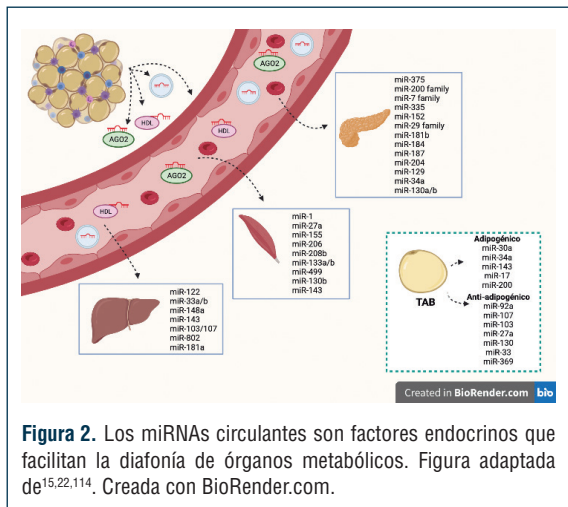
1246, miR-24-2-5p, miR-128, miR-421, miR-3178, miR-1224-5p, miR-221, miR-22 y miR-762, se regularon significativamente a la baja después de la cirugía en tejido adiposo subcutáneo, mientras que solo miR-223-3p mostró una regulación a la baja significativa en el tejido adiposo visceral⁴⁹.

En una estrategia de pérdida de peso de 15 semanas que incluyó ejercicio físico y un régimen dietético hipocalórico, la expresión de miR-29a-3p y miR-29a-5p se regularon al alza, mientras que miR-20b-5p y miR-454-3p fueron regulados a la baja, comparando la línea de base con la expresión posterior a la intervención en el tejido adiposo subcutáneo de sujetos con obesidad. Además, se encontró una correlación inversa entre el miembro 1 de la familia de acilCoA sintetasa de cadena larga (*ACSL1*) y miR-454-3p; lipasa de monoglicérido (*MGLL*) y miembro 4 de la familia de transportadores de solutos 2 (*SLC2A4*), que es principalmente responsable de la captación de glucosa en los adipocitos y miR-20b-5p; lipoproteína lipasa (*LPL*) con miR-29a-3p y finalmente miembro 4 de la familia de acilCoA sintetasa de cadena larga (*ACSL4*) y transductor de señal y activador de la transcripción 3 (*STAT3*) con miR-454-3p y miR-20b-5p. Esta última observación es interesante ya que estos dos miARN pueden actuar juntos en la modulación de genes, como *ACSL4* y *STAT3*, implicados en la homeostasis y el metabolismo de la energía (50).

Ortega y col.⁵¹ identificaron 11 miARNs significativamente desregulados en la grasa subcutánea de sujetos con obesidad. Posteriormente, Heneghan *et al.*⁵² demostraron que miR-17-5p y miR-132 estaban alterados en el tejido adiposo y en muestras circulantes provenientes de individuos con obesidad, destacando su potencial como nuevos biomarcadores para la obesidad.

>>RELACIÓN ENTRE LOS MIARNs DERIVADOS DEL TEJIDO ADIPOSO Y LOS ÓRGANOS METABÓLICOS

Varios miARNs funcionan como factores endocrinos que facilitan la diafonía entre el tejido adiposo, el hígado, el músculo y el páncreas (fig. 2). Un ejemplo es el miR-122, que se expresa en gran medida en el tejido hepático y es esencial para el metabolismo de los lípidos, además de tener propiedades anti-inflamatorias y anti-tumorales en el hígado³⁴. Asimismo, el miR-122 enriquecido



en hepatocitos se encuentra asociado con AGO2 o VE en la circulación^{37,53}. Los niveles de miR-122 están significativamente disminuidos en el hígado de pacientes con hígado graso no alcohólico o esteatohepatitis no alcohólica, mientras que los niveles de miR-122 circulantes están elevados en estos pacientes y también en individuos con obesidad⁵². Un mecanismo propuesto para explicar estos hallazgos es que el miR-122 se produce y se secreta predominantemente desde el hígado en individuos sanos, mientras que, en condiciones de obesidad, el tejido adiposo comienza a producir y secretar mayores cantidades de miR-122 en la circulación para mantener un hígado sano funcionan y retrasan el desarrollo de la enfermedad hepática⁵⁴.

Se propone que el tejido adiposo y el músculo esquelético se comunican mediante la transmisión de miARNs. Un potencial miARN candidato que facilita esta comunicación es el miR-27a. El miR-27a exosómico derivado de adipocitos puede ser absorbido por las células del músculo esquelético, donde induce resistencia a la insulina mediante la represión de PPAR γ ⁵⁵. De la misma manera, el miR-155 exosómico derivado de macrófagos de tejido adiposo también puede aumentar la resistencia a la insulina mediante la inhibición de PPAR γ en miocitos L6 *in vitro*⁴¹. Además, miR-130b derivado de adipocitos, que aumenta en el plasma de sujetos obesos, inhibe la oxidación de lípidos en las células del músculo esquelético (C2C12) mediante la represión del coactivador 1 α de PPAR γ (PGC1 α). Por otra parte, durante la obesidad, la señalización de TGF- β da como resultado un aumento de la producción

y secreción de miR-130b por los adipocitos maduros, lo que a su vez conduce a una expresión reducida de PGC1 α en el músculo esquelético⁵⁶.

La primera sugerencia de un papel de los miARNs en la secreción de hormonas en vertebrados provino de un enfoque de clonación de ARN pequeños de la línea MIN6 derivada de células β ¹⁷. Se ha informado de que numerosos miARNs están implicados en el desarrollo pancreático⁵⁷. Uno de los más relevantes es el miR-375, que es el más abundante en los islotes pancreáticos y es esencial para mantener la masa normal de células β pancreáticas⁵⁸. Se observa un aumento en la expresión de miR-375 durante el desarrollo de las células de los islotes pancreáticos, mientras que el funcionamiento de las células β está relacionado con su disminución⁵⁸.

>> MICROARNs CIRCULANTES COMO BIOMARCADORES DE OBESIDAD

Los miARNs maduros, como se muestra en la figura 1, pueden realizar sus funciones dentro de la célula o liberarse en la circulación y en una variedad de fluidos biológicos, incluida la orina, la saliva y el líquido linfático entre otros²².

Los miARNs circulantes están protegidos de las ARNasas en el entorno extracelular, especialmente asociándose con microvesículas, exosomas o complejos proteína/lipoproteína, participando así en la comunicación de célula a célula (fig. 1). Además, los miARNs tienen una alta estabilidad a temperatura ambiente y durante ciclos repetidos de congelación-descongelación, lo que los convierte en moléculas extracelulares muy estables y capaces de actuar como biomarcadores diagnósticos, pronósticos y terapéuticos⁶⁰. Los niveles de miARNs circulantes generalmente reflejan una respuesta sistémica a un estímulo externo, por lo tanto, los niveles de expresión de estas moléculas pueden usarse como biomarcadores no invasivos de enfermedades humanas¹³.

Los miARNs circulantes liberados por el tejido adiposo u otros tejidos metabólicamente activos pueden ser posibles biomarcadores no invasivos para el pronóstico y el tratamiento de la obesidad y los trastornos metabólicos relacionados²². En la tabla II presentamos los principales miARNs circulantes previamente asociados con la obesidad.

TABLA II. MICROARNs CIRCULANTES ASOCIADOS CON LA OBESIDAD

Autor	Diseño del estudio	Muestra	MiARNs expresados diferencialmente	Observación
Prats-Puig, 2013	Niños con obesidad	Plasma	↑ miR-486-5p, miR-486-3p, miR-142-3p, miR-130b, miR-423-5p ↓ miR-221, miR-28-3p	
Wang, 2013	Adultos chinos con obesidad	Plasma	↑ miR-130b	
Can, 2016	Niños con obesidad	Suero	↑ miR-27, miR-370, miR-378	
Wang, 2015	Jóvenes adultos chinos con obesidad	Suero	↑ miR-122	
Wen, 2015	Sobrepeso e obesidad	Suero	↓ miR-223	Después de la intervención en el estilo de vida, miR-223 ↑
Ortega et al, 2013	Pacientes con obesidad grado III (IMC ≥ 40kg/m ²), pacientes con IMC 30-39 kg/m ² y sujetos no obesos	Plasma	↓ miR-221, miR-15a, miR-520c-3p, miR-423-5p, miR-130b ↑ miR-142-3p, miR-140-5p, miR-222	MiARNs asociados con obesidad severa. Predicción del grado de la obesidad
Mazloom et al, 2016	Obesidad con DM2 en comparación con controles	Células blancas	↓ miR-21	Expresión inversamente correlacionada con TNF-A e IL-6
Heneghan et al, 2011	Pacientes con obesidad en comparación con controles no obesos	Sangre total	↓ miR-17-5p, miR-132	La expresión en plasma se correlacionó inversamente con la expresión en el tejido adiposo visceral
Pescador et al.	Pacientes con obesidad en comparación con controles no obesos	Suero	↓ miR-503	Este miARN también está ↓ en pacientes con DM2
Ghorbani et al. 2018	Pacientes con obesidad (con o sin DM2) en comparación con controles	Suero	↓ miR-21	
Al-Rawaf et al, 2018	Pacientes con obesidad y sobrepeso en comparación con controles normopesos	Plasma	↓ miR-532-5p, miR-423-5p, miR-520c-3p, miR-146a, miR-15a ↑ miR-142-3p, miR-140-5p, miR-222, miR-143, miR-130	Pacientes con obesidad y sobrepeso en comparación con controles de peso normal
Cui et al, 2018	Pacientes con obesidad en comparación con controles no obesos	Suero	↑ miR-222, miR-486, miR-146b, miR-146a, miR-20a, miR-15b, miR-26b-3p	miR-486, miR-146b, y miR-15b estaban ↑ en pacientes con DM2
Assmann et al. 2020	Pacientes con obesidad en comparación con controles no obesos	Plasma	26 microARNs circulantes expresados diferencialmente entre casos y controles	Los resultados siguen siendo significativos después del ajuste por edad y sexo. La expresión de los miARNs estaba correlacionada con variables metabólicas, como IMC, niveles de glucosa, leptina y adiponectina

DM2: diabetes tipo 2.

Una de las principales fuentes de miARNs circulantes asociados con la obesidad es el tejido adiposo^{9,21,32}. En pacientes con lipodistrofia, los niveles circulantes de miARNs disminuyen sustancialmente en comparación con los individuos sanos³². Así, el tejido adiposo con la enzima Dicer delecionada (ratones ADicerKO) exhibe una disminución sustancial en los niveles de miARNs circulantes, incluidos miR-222, miR-486, miR-146b, miR-146a y miR-26b³². El trasplante de tejido adiposo derivado de ratones de tipo salvaje en ratones ADicerKO reconstituyó los niveles de miARNs circulantes y mejoró la tolerancia a la glucosa³².

Además, existe evidencia de que la expresión de varios miARNs está influenciada o es consecuencia del exceso de peso o adiposidad. En este contexto, una revisión sistemática sobre el tema identificó 33 miARNs circulantes asociados con la obesidad humana. Entre estos miARNs, 22 estaban aumentados, 9 estaban disminuidos y 2 estaban desregulados en ambas direcciones en personas obesas en comparación con los controles delgados¹⁴.

Un miARN circulante importante derivado del tejido adiposo es el miR-27a, en el que se encontró que la expresión de este miARN estaba aumentada en adultos y niños obesos, así como en pacientes con diabetes tipo 2 en comparación con individuos sanos^{43,55}. Los niveles circulantes de miR-27a se correlacionan positivamente con el porcentaje de grasa corporal en humanos⁴³, lo que sugiere que el tejido adiposo puede estar produciendo y secretando miR-27a en humanos. Asimismo, los modelos de obesidad en ratones deficientes genéticamente en leptina y alimentados con dieta rica en grasa también muestran niveles aumentados de miR-27a circulante en comparación con los ratones delgados^{43,55}.

Apoyando la hipótesis de que los miARNs circulantes pueden ser marcadores de daño celular en el tejido adiposo, la expresión de miR-132 y miR-17-5p en plasma se correlacionó inversamente con la expresión de estos dos miARNs en biopsias de tejido adiposo visceral⁵². Además, los niveles de miR-17-5p se asocian negativamente con el IMC en pacientes obesos⁵².

Estudios posteriores han sugerido que existe una relación entre los niveles de miARNs circulantes

y los grados de obesidad⁶¹. En este contexto, los pacientes con $\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$ mostraron mayor expresión de miR-222, miR-142-3p y miR-140-5p y niveles disminuidos de miR-221, miR-15a, miR-520c-3p, miR-130b y miR-423-5p en comparación con sujetos con $\text{IMC} < 40 \text{ kg/m}^2$. Además, una combinación de niveles elevados de miR-423-5p, miR-520c-3p y miR-15a en el plasma de los hombres es capaz de predecir la obesidad de grado 3 con un 93,5% de certeza. Además, los niveles de miR-520c-3p se asociaron inversamente con el IMC, la masa grasa, la circunferencia de la cintura, los niveles de glucosa en sangre, los niveles de HbA1c y el recuento de linfocitos en sangre⁶¹.

Otro papel importante de los miARNs circulantes es ser biomarcadores de complicaciones de la obesidad en los niños. Un estudio transversal reveló 7 miARNs circulantes asociados con la obesidad prepuberal (disminuido: miR-221 y miR-28-3p; aumentado: miR-486-5p, miR-486-3p, miR-142-3p, miR-130b y miR-423-5p)⁶². Efectivamente, los niveles circulantes de estos miARNs se asociaron significativamente con el IMC, el porcentaje de masa, la circunferencia de la cintura, la evaluación del modelo de homeostasis de la resistencia a la insulina y los niveles de la adiponectina⁶². Varios miARNs circulantes, incluyendo miR-10b-5p, miR-215-5p, miR-501-5p, miR-551a y miR-874-3p, se relacionaron significativamente con el IMC en niños y adolescentes con sobrepeso u obesidad de grado bajo⁶³. Por lo tanto, la detección muy temprana de un perfil de miARN circulante anormal puede ser una estrategia prometedora para identificar a niños con obesidad que pueden tener otras enfermedades metabólicas acompañadas de inflamación.

Además, los estudios también investigaron el papel de los miARNs circulantes como predictores del desarrollo de diabetes tipo 2 en niños con obesidad. Los niveles circulantes de miR-486, miR-146b y miR-15b aumentan más drásticamente en niños con obesidad y en pacientes adultos con diabetes tipo 2. En este contexto, miR-486 se asocia con una mayor proliferación de pre-adipocitos e intolerancia a la glucosa, mientras que miR-146b y miR-15b participaron en la supresión de la secreción de insulina pancreática inducida por glucosa de alta concentración⁶⁴. Además, también se ha descrito un patrón de expresión que consta de 12 miARNs relacio-

nados con la resistencia a la insulina en adolescentes con obesidad⁶⁵.

>>MICROARN E INTERVENCIONES DE PÉRDIDA DE PESO

Además de demostrar que varios miARNs circulantes están asociados con la obesidad, algunos investigadores han demostrado que los miARNs circulantes pueden ser regulados por nutrientes o compuestos bioactivos, lo que podría explicar los cambios en el patrón de expresión en algunos miARNs en respuesta a una dieta específica⁶⁶.

La evidencia sugiere que las intervenciones rápidas de pérdida de peso pueden modular la expresión de varios miARNs. En la búsqueda para identificar posibles biomarcadores para la pérdida de peso, se ha informado la expresión diferencial de miARN en células mononucleares de sangre periférica en pacientes con alta respuesta en comparación con pacientes con baja respuesta después de una dieta de restricción energética de 8 semanas. Además, siete miARNs (miR-34a, miR-208, miR-193a, miR-320, miR-433, miR-568 y miR-181a) pueden ser biomarcadores potenciales de los efectos beneficiosos de la pérdida de peso en mujeres con obesidad⁶⁷. De manera similar, la pérdida de peso inducida por una dieta rica en proteínas puede disminuir los niveles de miR-223 en hombres con obesidad⁶⁸.

En esta línea, Milagro et al.³, caracterizaron la expresión de miARN en células mononucleares de sangre periférica de mujeres con obesidad sometidas a una dieta de restricción energética durante 8 semanas. Después de la intervención, la población se clasificó en respondedores (> 5% de pérdida de masa corporal) y no respondedores (<5% de pérdida de masa corporal). Al inicio del estudio, miR-935 y miR-4772 aumentaron, mientras que miR-223, miR-224 y miR-376b disminuyeron en el grupo de no respondedores en comparación con los que respondieron a la pérdida de peso inducida por la dieta. En particular, miR-935, miR-4772 y miR-376b también mostraron una asociación relevante con la magnitud de la pérdida de peso, lo que los convierte en biomarcadores candidatos valiosos para la pérdida de peso y la respuesta dietética.

Otro estudio evaluó las alteraciones de miARN en glóbulos blancos obtenidos de pacientes con

síndrome metabólico que participaron en el ensayo nutricional RESMENA. Los sujetos se clasificaron como respondedores altos y respondedores bajos cuando la pérdida de peso después de 8 semanas fue mayor o menor al 8%, respectivamente. Seis miARNs (miR-1237, miR-1976, miR-642, miR-636, miR-612, miR193b) tanto hipometilados como aumentados fueron identificados en los que respondían alto en comparación con los que respondían poco⁶⁹. Los mismos autores también publicaron sobre regulación de miR-548q y miR-1185-1 en los respondedores altos en comparación con los de baja respuesta emparejados por sexo y género. En un ensayo funcional, miR-548q y miR-1185-1 redujeron la expresión génica de la glucógeno sintasa quinasa-3B (*GS-K3B*)⁷⁰. Además, la expresión de miR-1185-1 se correlacionó negativamente con los niveles séricos de IL-6⁷⁰.

Además, el perfil de expresión de los miARNs puede depender del tipo de dieta utilizada en la intervención de pérdida de peso⁷¹. En este sentido, entre los miARN expresados diferencialmente en individuos con obesidad en comparación con los controles, siete miARNs (miR-130a-3p, miR142-5p, miR-144-5p, miR-15a-5p, miR-22-3p, miR-221-3p y miR-29c-3p) se asociaron significativamente con la respuesta a una dieta baja en grasas, pudiendo categorizar aún más a los respondedores de los no respondedores a esta intervención⁷¹. Ningún miARN se asoció con la respuesta a una dieta moderadamente alta en proteínas⁷¹. Interesantemente, varios reguladores del metabolismo de los ácidos grasos, como el receptor α activado por el proliferador de peroxisomas (*PPAR- α*) y la sirtuina-1 (*SIRT1*), son genes dianas de miR-22^{72,73}. En el mismo sentido, un total de 49 miARNs se expresaron diferencialmente después de 8 semanas de intervención dietética, 35 de la *American Heart Association* y 14 de la dieta RESMENA (Reducción del síndrome metabólico en Navarra). MiR-2115, miR-587 y miR-96 mostraron expresiones diferenciales entre las dos estrategias dietéticas después de la intervención⁷⁴.

En un modelo de ratón con delección intestinal específica de Dicer para identificar miARNs liberados en el intestino, se encontró que diez miARNs circulantes responden a la lipemia postprandial, incluidos miR-206-3p, miR-543-3p, miR-466c- 5p, miR-27b -5p, miR-409-3p, miR-

340-3p, miR-1941-3p, miR-10a-3p, miR-125a-3p y miR-468-3p. Además, miR-206, miR-27b-5p y miR-409-3p se han validado en seres humanos sanos⁷⁵, enseñando la modulación de la expresión de los miRNAs por la dieta.

Además de las intervenciones dietéticas, la pérdida de peso lograda con el ejercicio también puede influir en la expresión de miARNs asociados con la obesidad⁷⁶. En un subgrupo de pacientes obesos, una intervención individualizada de 3 meses que incluyó sesiones de entrenamiento aeróbico y de resistencia disminuyó los niveles plasmáticos de miR-146a-5p⁷⁷. Asimismo, una intervención de ejercicio terapéutico de 16 semanas modificó los niveles circulantes de miR-192 y miR-193b, ambos expresados específicamente en el estado pre-diabético en relación con personas sanas y pacientes con diabetes tipo 2⁷⁸. Además, la expresión de miR-935 fue mayor en los pacientes de respuesta baja en comparación con los pacientes de respuesta alta a una intervención de 16 semanas, con el objetivo de generar un déficit energético de 500 kcal (~ 250 kcal inducido por la dieta y ~ 250 kcal inducido por el ejercicio diario)⁷⁹.

La cirugía bariátrica es un tratamiento eficaz para la obesidad mórbida; los pacientes sometidos al procedimiento reducen significativamente la masa de tejido adiposo en el primer año después de la cirugía⁸⁰. Usando un marcador sensible y específico de la proteína de unión a ácidos grasos de adipocitos 4 (FABP4) para identificar exosomas derivados de adipocitos en suero, los investigadores observaron que el perfil de los miARNs circulantes derivados del tejido adiposo exosómico era diferente 1 año después de la cirugía en comparación con antes de la cirugía en pacientes con obesidad⁸¹. Por el contrario, la sobreexpresión de miARNs circulantes inducida por la obesidad, como miR-140-5p y miR-142-3p²⁹, disminuyó significativamente después de la cirugía bariátrica⁸¹.

En la misma línea, la expresión de seis miARNs (miR-7-5p, let-7f-5p, miR-15b-5p, miR-320c, miR-205-5p, miR-335-5p) se incrementó significativamente, mientras que la expresión de let-7i-5p disminuyó después de la cirugía de *bypass* gástrico. La mayoría de estos miARNs se expresan en células asesinas naturales, que desempeñan un papel fundamental en la inflamación inducida por la obesidad⁸².

En conjunto, estos datos sugieren que la restricción dietética, el ejercicio y la cirugía bariátrica están asociados con niveles precisamente aumentados o disminuidos de miARNs circulantes específicos asociados con la obesidad. Sin embargo, no está claro si estos cambios en los niveles de miARNs son una causa o una consecuencia de las mejoras en el metabolismo. Aunque esta fuera del objetivo de esta revisión, recientemente se ha descrito que la dieta *per se* podría proporcionar miARNs exógenos^{83,84} abriendo así nuevas posibilidades de modular sus dianas.

>>FUENTES DE MICROARNs Y METODOLOGÍA DE ANÁLISIS

En general, los miARNs maduros liberados por los tejidos, especialmente el tejido adiposo, pueden actuar sobre el propio tejido adiposo, así como también pueden liberarse en fluidos biológicos y actuar regulando la expresión génica en células distantes o actuar como biomarcadores de daño tisular^{85,86}. Los miARNs se pueden encontrar en fluidos biológicos, especialmente el torrente sanguíneo, en su forma libre, dentro de exosomas o incluso conjugados a proteínas, como Argonaute-2 o HDL^{11,87}. Recientemente, se han identificado ARNm y miARN en exosomas, que pueden ser captados por células vecinas o distantes, donde ejercen el silenciamiento génico a través del mismo mecanismo que los miARNs celulares⁸⁶. Así, se desarrollaron diferentes formas de extraer y analizar estos miARNs, teniendo en cuenta el origen del miARN.

En este sentido, Mitchell et al.⁸⁸ confirmaron la presencia de miARNs libres en suero aplicando varios pasos de filtración y centrifugación para separar células del plasma, demostraron que los miARN séricos no estaban asociados con células o fragmentos de células más grandes, pero existían en una forma estable y protegida⁸⁸.

Medir el nivel de expresión de miARN es un paso crítico en los métodos que estudian la regulación de funciones biológicas y que utilizan perfiles de miARNs como marcadores de diagnóstico para la obesidad y otras enfermedades. Aunque la cuantificación de estas pequeñas moléculas de miARN por RT-qPCR es un desafío debido a su corta longitud y similitud de secuencia, se han desarrollado exitosas tecnologías para

cuantificar tanto el precursor como el miARN maduro⁸⁹. Los métodos más comúnmente utilizados son los ensayos y matrices de microARN TaqMan[®] basados en RT-PCR (ya sea tradicional o digital), RNA-seq, *microarray* y los de la tecnología NanoString^{89,90}.

>>MIARNs, BASES DE DATOS Y RECURSOS WEB

Se han desarrollado muchas herramientas bioinformáticas para cada proceso de biogénesis de miARN y para ayudar a los biólogos a investigar cuestiones de biología de miARN⁹¹. Las herramientas de anotación se encuentran entre las más importantes en el campo. MiRBase proporciona un almacenamiento en línea para precursores publicados y miARN maduros y anotaciones asociadas⁹².

Las primeras herramientas bioinformáticas podrían predecir los nuevos miARNs utilizando un análisis de la estructura del ARN secundario potencialmente en horquilla en el genoma. Los algoritmos de aprendizaje automático están más allá de la secuencia y las propiedades estructurales y permiten que los programas informáticos aprendan mediante la recopilación de información de miARN previamente confirmados y un conjunto negativo de bucles de tallo que se presume no son miARN precursores^{93,94}. Las herramientas representativas de predicción de la estructura de miARN son ViennaRNA⁹⁵ y RNAs-structure⁹⁶.

La nueva identificación de miARN es un proceso complejo pero esencial, se han diseñado varias herramientas para este propósito basados en datos de secuenciación de próxima generación, siendo miRDeep2⁹⁷ y miRanalyzer⁹⁸ los más conocidas.

El servidor web TargetScan predice los genes diana de los miARNs mediante la búsqueda de la presencia de sitios conservados en los genes. También predice la estructura secundaria para calcular la energía libre de los dúplex predichos. En la misma línea, MiRWalk es un atlas completo de interacciones miARN-genes predichas y confirmadas experimentalmente que combinan varios algoritmos para minimizar los resultados falsos positivos y negativos⁹⁹. Otros ejemplos

de bases de datos son MiRTarBase¹⁰⁰ y TarBase¹⁰¹. Además, varias bases de datos disponibles están recopilando información sobre la asociación de miARNs en una variedad de enfermedades. Entre esas bases de datos, miR2Disease¹⁰², Disgenet¹⁰³ y HMDD 2.0¹⁰⁴ presentaron información completa sobre la desregulación de miARNs en diferentes enfermedades humanas. También existen varias herramientas y recursos web que describen los miRNAs secretados y transportados en vesículas extracelulares (ejem. Vesiclepedia, ExoCarta, EVpedia, entre otras)^{105,106}.

Polimorfismo de un solo nucleótido en el miARN o en el sitio objetivo del miARN podría afectar la interacción entre ellos y afectar aún más la función del miARN. MirSNP es una base de datos que recopila SNP en sitios diana-predichos de miARN (107). Además, los datos de expresión, incluida la secuenciación de miRNA (miRNA-Seq) y el microarray de miRNA, se pueden descargar de la base de datos Gene Expression Omnibus (GEO)¹⁰⁸.

>>MICROARN COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA

La aplicación terapéutica de los miARNs representa una estrategia emergente en el tratamiento de varias enfermedades crónicas, incluida la obesidad. En contraste con el direccionamiento de un solo gen mediante el uso de siARN, el direccionamiento de miARN terapéutico ofrece la capacidad de regular múltiples genes diana dentro de una vía de señalización específica o unos pocos objetivos en múltiples vías independientes, lo cual es esencial para la patogénesis de enfermedades complejas como la obesidad¹⁰⁹. Un ejemplo de una posible diana terapéutica para la inflamación metabólica inducida por la obesidad es miR-30, un importante regulador de la polarización de los macrófagos en ratones¹¹⁰.

En este escenario, dos enfoques de posibles herramientas terapéuticas basadas en miARN se han mostrado prometedores en estudios preclínicos y ensayos clínicos: 1) la regulación a la baja o antagonización de miARN relacionados con la enfermedad (antimiR) y 2) la administración de miARNs exógenos que mimetizan la acción de los miARN endógenos^{9,22,61}. En este último punto, de terapia de reemplazo de miRNAs, la posible su-

pervivencia de los miRNAs de la dieta a las condiciones gastrointestinales⁸³ podría abrir nuevas estrategias terapéuticas basadas en miRNAs¹¹¹.

Los miARN que aumentan en la obesidad pueden ser inhibidos por moléculas cortas de ARN o ADN monocatenario que se unen a los miARN mediante apareamiento de bases o 'decoys' o 'sponges' de miARN para reducir la actividad de miARN específicos⁶⁵. Debido a que los miARN normalmente actúan como represores de la expresión del gen diana, un inhibidor de miARN se une al miARN maduro y, por lo tanto, activa la expresión del gen diana⁶. Teniendo en cuenta que las ARNasas degradan fácilmente los anti-miR desnudos, se han utilizado varias estrategias para modificar los oligonucleótidos anti-miR (aumentar la estabilidad, la afinidad química o la captación tisular), incluidos los anti-miR, los antagoni-miR y el ácido nucleico bloqueado por morfolidos (LNA)^{85,112}. Un buen ejemplo de terapéutica basada en miARN es el inhibidor antisentido modificado con LNA de miR-122 (miravirsén), actualmente en ensayos clínicos de fase II, que demostró ser altamente efectivo para reducir el virus de la hepatitis C en pacientes crónicos sin causar efectos secundarios graves¹¹³.

En el contexto de la obesidad, aunque varios miARN tienen potencial clínico^{22,114}, solo dos miARNs (anti-miR-103 y anti-miR-107) han sido investigados en ensayos clínicos de fase I (conocidos como RG-125/AZD4076) destinados a tratar la diabetes tipo 2 con hígado graso no alcohólico¹¹⁵ y esteatohepatitis no alcohólica¹¹⁶. Es de destacar que miR-103 y miR-107 pertenecen a la familia miR-103/107, comporten la misma secuencia y muestran funciones fisiológicas similares. Es importante destacar que ambos miARNs, miR-103 y miR-107, están implicados en la patogénesis de diabetes tipo 2 y hígado graso no alcohólico y que el silenciamiento de estos miARNs condujo a un aumento de la señalización de la insulina en el hígado y el tejido adiposo y a una disminución del tamaño de los adipocitos¹⁶.

Otra estrategia es apuntar a los mecanismos que controlan la expresión/transcripción de genes que codifican miARN. Los antagoni-miR, que fueron los primeros inhibidores de miARN descritos en mamíferos, son oligonucleótidos antisentido sintéticos que facilitan la entrada en las células al asociarse con lipoproteínas o al unirse

a los receptores de la membrana de la superficie celular, incluidos los receptores para las moléculas de HDL y LDL¹¹⁷. A medida que los antagoni-miR se localizan en el citoplasma, no afectan los niveles de pre-miARN, lo que sugiere que se dirigen solo a miARN maduro. El modo de acción es a través del emparejamiento de bases de alta afinidad con miARN, lo que no permite la unión de miARN a sus genes diana. Además, estas moléculas también pueden inducir la degradación de miARN, a través de ARN diana altamente complementarios, disminuyendo la abundancia de miARNs¹¹⁷.

Un estudio sugirió que el miR-93 actúa como un regulador negativo de la adipogénesis y considera una diana terapéutica potencial y efectiva para la obesidad debido a la inhibición de la diana metabólica *Sirt7*, un importante impulsor de la adipogénesis *in vivo* a través de la inducción de la diferenciación y maduración de los precursores de adipocitos. Además, miR-93 controla *Tbx3*, lo que limita la auto-renovación en los precursores de adipocitos tempranos. Usando parabiosis de ratón, la obesidad en ratones miR-25-93-106b (-/-) se puede rescatar restaurando los niveles de miARN circulantes y la posterior inhibición de *Tbx3* y *Sirt7*. La regulación a la baja de MiR-93 también se produjo en ratones obesos ob/ob, y esta fenoscopia de miR-25-93-106b (-/-) fue parcialmente reversible con la inyección de imitadores de miR-93¹¹⁸.

Conjuntarle, estos resultados proporcionan evidencia y posibilidad de que las terapias anti-miARN o miméticas puedan convertirse en una realidad para el tratamiento de la obesidad humana en el futuro^{22,119}. Sin embargo, todavía existen desafíos y barreras importantes antes de que puedan desarrollarse potencial farmacológico para uso clínico. Además de optimizar la estabilidad, así como la administración *in vivo* específica de órganos y células, se necesita una mejor especificidad del objetivo para prevenir efectos fuera del objetivo o toxicidad para los tejidos y órganos normales, ya que un miARN dado puede tener múltiples genes diana^{119,120}.

>>CONCLUSIONES

El papel de los miARNs en la coordinación de diversas funciones celulares, como el manteni-

miento, la diferenciación y la apoptosis de las células madre, subraya su importancia emergente en la obesidad, como se revisa aquí. La expresión génica es un proceso complejo y dinámico influenciado por el entorno (ej. la dieta) en el que los miARNs participan en la regulación de las vías asociadas con el desarrollo de la obesidad. De esta forma, los miARNs se relacionan con la predisposición y el desarrollo de la obesidad. El descubrimiento de miARNs circulantes como biomarcadores de la obesidad podría proporcionar otra medida simple de la acumulación de grasa corporal para evaluar el grado de obesidad y guiar las intervenciones de pérdida de peso. Es de destacar que una evaluación adicional del pa-

pel de los miARNs circulantes en los trastornos metabólicos relacionados con la obesidad podría resultar en su uso como factores de riesgo para la predicción de enfermedades.

>> AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la convocatoria EUREACT.

>> CONFLICTOS DE INTERESES

No hay ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Endalifer ML, Diress G. Epidemiology, Predisposing Factors, Biomarkers, and Prevention Mechanism of Obesity: A Systematic Review. *J Obes.* 2020;2020:6134362.
2. González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJF, et al. Obesity. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17034.
3. Milagro FI, Miranda J, Portillo MP, Fernandez-Quintela A, Campión J, Martínez JA. High-throughput sequencing of microRNAs in peripheral blood mononuclear cells: identification of potential weight loss biomarkers. *PLoS One.* 2013;8(1):e54319.
4. Campión J, Milagro FI, Martínez JA. Individuality and epigenetics in obesity. *Obes Rev.* 2009;10(4):383-92.
5. Milagro FI, Campión J, Cordero P, Goyenechea E, Gómez-Uriz AM, Abete I, et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *FASEB J.* 2011;25(4):1378-89.
6. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *12004;116(2):281-97.*
7. Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet.* 2011;12(12):861-74.
8. Maurizi G, Babini L, Della Guardia L. Potential role of microRNAs in the regulation of adipocytes liposecretion and adipose tissue physiology. *J Cell Physiol.* 2018.
9. Lorente-Cebrián S, González-Muniesa P, Milagro FI, Martínez JA. MicroRNAs and other non-coding RNAs in adipose tissue and obesity: emerging roles as biomarkers and therapeutic targets. *Clin Sci (Lond).* 2019;133(1):23-40.
10. Martínez JA, Milagro FI, Claycombe KJ, Schalinske KL. Epigenetics in adipose tissue, obesity, weight loss, and diabetes. *Adv Nutr.* 2014;5(1):71-81.
11. Wu Y, Li Q, Zhang R, Dai X, Chen W, Xing D. Circulating microRNAs: Biomarkers of disease. *Clin Chim Acta.* 2021;516:46-54.
12. Butz H, Kinga N, Racz K, Patocs A. Circulating miRNAs as biomarkers for endocrine disorders. *J Endocrinol Invest.* 2016;39(1):1-10.
13. Cui C, Cui Q. The relationship of human tissue microRNAs with those from body fluids. *Sci Rep.* 2020;10(1):5644.
14. Ortiz-Dosal A, Rodil-García P, Salazar-Olivo LA. Circulating microRNAs in human obesity: a systematic review. *Biomarkers.* 2019;24(6):499-509.
15. Iacomino G, Siani A. Role of microRNAs in obesity and obesity-related diseases. *Genes Nutr.* 2017;12:23.
16. Trajkovski M, Hausser J, Soutschek J, Bhat B, Akin A, Zavolan M, et al. MicroRNAs 103 and 107 regulate insulin sensitivity. *Nature.* 2011;474(7353):649-53.
17. Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, Braun M, Collins S, Rorsman P, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(14):5813-8.
18. Shi C, Huang F, Gu X, Zhang M, Wen J, Wang X, et al. Adipogenic miRNA and meta-signature miRNAs involved in human adipocyte differentiation and obesity. *Oncotarget.* 2016;7(26):40830-45.

19. Xie H, Lim B, Lodish HF. MicroRNAs induced during adipogenesis that accelerate fat cell development are downregulated in obesity. *Diabetes*. 2009;58(5):1050-7.
20. Hijmans JG, Diehl KJ, Bammert TD, Kavlich PJ, Lincenberg GM, Greiner JJ, et al. Influence of Overweight and Obesity on Circulating Inflammation-Related microRNA. *Microna*. 2018;7(2):148-54.
21. Catanzaro G, Filardi T, Sabato C, Vacca A, Migliaccio S, Morano S, et al. Tissue and circulating microRNAs as biomarkers of response to obesity treatment strategies. *J Endocrinol Invest*. 2021;44(6):1159-74.
22. Ji C, Guo X. The clinical potential of circulating microRNAs in obesity. *Nat Rev Endocrinol*. 2019;15(12):731-43.
23. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005;6(5):376-85.
24. Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H, Kim VN. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev*. 2004;18(24):3016-27.
25. Sato-Kuwabara Y, Melo SA, Soares FA, Calin GA. The fusion of two worlds: non-coding RNAs and extracellular vesicles-diagnostic and therapeutic implications (Review). *Int J Oncol*. 2015;46(1):17-27.
26. McGregor RA, Choi MS. microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Curr Mol Med*. 2011;11(4):304-16.
27. Peng Y, Yu S, Li H, Xiang H, Peng J, Jiang S. MicroRNAs: emerging roles in adipogenesis and obesity. *Cell Signal*. 2014;26(9):1888-96.
28. Cruz KJC, de Oliveira ARS, Morais JBS, Severo JS, Marreiro PhD DDN. Role of microRNAs on adipogenesis, chronic low-grade inflammation, and insulin resistance in obesity. *Nutrition*. 2017;35:28-35.
29. He H, Sun D, Zeng Y, Wang R, Zhu W, Cao S, et al. A Systems Genetics Approach Identified GPD1L and its Molecular Mechanism for Obesity in Human Adipose Tissue. *Sci Rep*. 2017;7(1):1799.
30. Ivan M, Huang X. miR-210: fine-tuning the hypoxic response. *Adv Exp Med Biol*. 2014;772:205-27.
31. Richardson K, Louie-Gao Q, Arnett DK, Parnell LD, Lai CQ, Davalos A, et al. The PLIN4 variant rs8887 modulates obesity related phenotypes in humans through creation of a novel miR-522 seed site. *PLoS One*. 2011;6(4):e17944.
32. Thomou T, Mori MA, Dreyfuss JM, Konishi M, Sakaguchi M, Wolfrum C, et al. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. *Nature*. 2017;542(7642):450-5.
33. Vienberg S, Geiger J, Madsen S, Dalgaard LT. MicroRNAs in metabolism. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017;219(2):346-61.
34. Fodor A, Lazar AL, Buchman C, Tipericiu B, Orasan OH, Cozma A. MicroRNAs: The Link between the Metabolic Syndrome and Oncogenesis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12).
35. Fujimoto Y, Nakagawa Y, Shingyouchi A, Tokushige N, Nakanishi N, Satoh A, et al. Dicer has a crucial role in the early stage of adipocyte differentiation, but not in lipid synthesis, in 3T3-L1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;420(4):931-6.
36. Flaherty SE, Grijalva A, Xu X, Ables E, Nomani A, Ferrante AW. A lipase-independent pathway of lipid release and immune modulation by adipocytes. *Science*. 2019;363(6430):989-93.
37. Castaño C, Kalko S, Novials A, Párrizas M. Obesity-associated exosomal miRNAs modulate glucose and lipid metabolism in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(48):12158-63.
38. Campello E, Zabeo E, Radu CM, Spiezia L, Foletto M, Prevedello L, et al. Dynamics of circulating microparticles in obesity after weight loss. *Intern Emerg Med*. 2016;11(5):695-702.
39. Villard A, Marchand L, Thivolet C, Rome S. Diagnostic Value of Cell-free Circulating MicroRNAs for Obesity and Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *J Mol Biomark Diagn*. 2015;6(6).
40. Pan Y, Hui X, Hoo RLC, Ye D, Chan CYC, Feng T, et al. Adipocyte-secreted exosomal microRNA-34a inhibits M2 macrophage polarization to promote obesity-induced adipose inflammation. *J Clin Invest*. 2019;129(2):834-49.
41. Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, Dong Y, Birmingham A, Seo JB, et al. Adipose Tissue Macrophage-Derived Exosomal miRNAs Can Modulate In Vivo and In Vitro Insulin Sensitivity. *Cell*. 2017;171(2):372-84.e12.
42. Murillo OD, Thistlethwaite W, Rozowsky J, Subramanian SL, Lucero R, Shah N, et al. exRNA Atlas Analysis Reveals Distinct Extracellular RNA Cargo Types and Their Carriers Present across Human Biofluids. *Cell*. 2019;177(2):463-77.e15.
43. Nunez Lopez YO, Garufi G, Seyhan AA. Altered levels of circulating cytokines and microRNAs in lean and obese individuals with prediabetes and type 2 diabetes. *Mol Biosyst*. 2016;13(1):106-21.
44. Yao F, Yu Y, Feng L, Li J, Zhang M, Lan X, et al. Adipogenic miR-27a in adipose tissue upregulates macrophage activation via inhibiting PPAR γ of insulin resistance induced by high-fat diet-associated obesity. *Exp Cell Res*. 2017;355(2):105-12.
45. Zietzer A, Hosen MR, Wang H, Goody PR, Sylvester M, Latz E, et al. The RNA-binding protein hnRNPU regulates the sorting of microRNA-30c-5p into large extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2020;9(1):1786967.
46. Lee H, Li C, Zhang Y, Zhang D, Otterbein LE, Jin Y. Caveolin-1 selectively regulates microRNA sorting into microvesicles after noxious stimuli. *J Exp Med*. 2019;216(9):2202-20.

47. Klötting N, Berthold S, Kovacs P, Schön MR, Fasshauer M, Ruschke K, et al. MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue. *PLoS One*. 2009;4(3):e4699.
48. Oger F, Gheeraert C, Mogilenko D, Benomar Y, Molendi-Coste O, Bouchaert E, et al. Cell-specific dysregulation of microRNA expression in obese white adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(8):2821-33.
49. Macartney-Coxson D, Danielson K, Clapham J, Benton MC, Johnston A, Jones A, et al. MicroRNA Profiling in Adipose Before and After Weight Loss Highlights the Role of miR-223-3p and the NLRP3 Inflammasome. *Obesity (Silver Spring)*. 2020;28(3):570-80.
50. Kristensen MM, Davidsen PK, Vigelsø A, Hansen CN, Jensen LJ, Jessen N, et al. miRNAs in human subcutaneous adipose tissue: Effects of weight loss induced by hypocaloric diet and exercise. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25(3):572-80.
51. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Pardo G, Sabater M, Hummel M, Ferrer A, et al. MiRNA expression profile of human subcutaneous adipose and during adipocyte differentiation. *PLoS One*. 2010;5(2):e9022.
52. Heneghan HM, Miller N, McAnena OJ, O'Brien T, Kerin MJ. Differential miRNA expression in omental adipose tissue and in the circulation of obese patients identifies novel metabolic biomarkers. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5):E846-50.
53. Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, 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(12):5003-8.
54. Baranova A, Maltseva D, Tonevitsky A. Adipose may actively delay progression of NAFLD by releasing tumor-suppressing, anti-fibrotic miR-122 into circulation. *Obes Rev*. 2019;20(1):108-18.
55. Yu Y, Du H, Wei S, Feng L, Li J, Yao F, et al. Adipocyte-Derived Exosomal MiR-27a Induces Insulin Resistance in Skeletal Muscle Through Repression of PPAR γ . *Theranostics*. 2018;8(8):2171-88.
56. Wang YC, Li Y, Wang XY, Zhang D, Zhang H, Wu Q, et al. Circulating miR-130b mediates metabolic crosstalk between fat and muscle in overweight / obesity. *Diabetologia*. 2013;56(10):2275-85.
57. Kaviani M, Azarpira N, Karimi MH, Al-Abdullah I. The role of microRNAs in islet β -cell development. *Cell Biol Int*. 2016;40(12):1248-55.
58. Baroukh NN, Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. *FEBS J*. 2009;276(22):6509-21.
59. Wei R, Yang J, Liu GQ, Gao MJ, Hou WF, Zhang L, et al. Dynamic expression of microRNAs during the differentiation of human embryonic stem cells into insulin-producing cells. *Gene*. 2013;518(2):246-55.
60. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(16):7223-33.
61. Ortega FJ, Mercader JM, Catalán V, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Sabater M, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. *Clin Chem*. 2013;59(5):781-92.
62. Prats-Puig A, Ortega FJ, Mercader JM, Moreno-Navarrete JM, Moreno M, Bonet N, et al. Changes in circulating microRNAs are associated with childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(10):E1655-60.
63. Iacomino G, Russo P, Marena P, Lauria F, Venezia A, Ahrens W, et al. Circulating microRNAs are associated with early childhood obesity: results of the I.Family Study. *Genes Nutr*. 2019;14:2.
64. Cui X, You L, Zhu L, Wang X, Zhou Y, Li Y, et al. Change in circulating microRNA profile of obese children indicates future risk of adult diabetes. *Metabolism*. 2018;78:95-105.
65. Lin H, Tas E, Børsheim E, Mercer KE. Circulating miRNA Signatures Associated with Insulin Resistance in Adolescents with Obesity. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020;13:4929-39.
66. Quintanilha BJ, Reis BZ, Duarte GBS, Cozzolino SMF, Rogero MM. Nutrимиomics: Role of microRNAs and Nutrition in Modulating Inflammation and Chronic Diseases. *Nutrients*. 2017;9(11).
67. Manning P, Munasinghe PE, Bellae Papannarao J, Gray AR, Sutherland W, Katare R. Acute Weight Loss Restores Dysregulated Circulating MicroRNAs in Individuals Who Are Obese. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(4):1239-48.
68. Tabet F, Cuesta Torres LF, Ong KL, Shrestha S, Choteau SA, Barter PJ, et al. High-Density Lipoprotein-Associated miR-223 Is Altered after Diet-Induced Weight Loss in Overweight and Obese Males. *PLoS One*. 2016;11(3):e0151061.
69. Garcia-Lacarte M, Martinez JA, Zulet MA, Milagro FI. Implication of miR-612 and miR-1976 in the regulation of TP53 and CD40 and their relationship in the response to specific weight-loss diets. *PLoS One*. 2018;13(8):e0201217.
70. Garcia-Lacarte M, Mansego ML, Zulet MA, Martinez JA, Milagro FI. miR-1185-1 and miR-548q Are Biomarkers of Response to Weight Loss and Regulate the Expression of. *Cells*. 2019;8(12).
71. Assmann TS, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Martínez JA. Circulating adiposity-related microRNAs as predictors of the response to a low-fat diet in subjects with obesity. *J Cell Mol Med*. 2020;24(5):2956-67.
72. Gurha P, Wang T, Larimore AH, Sassi Y, Abreu-Goodger C, Ramirez MO, et al. microRNA-22 promotes heart failure through coordinate suppression of PPAR/ERR-nuclear hormone receptor transcription. *PLoS One*. 2013;8(9):e75882.

73. Kurylowicz A, Owczarz M, Polosak J, Jonas MI, Lisik W, Jonas M, et al. SIRT1 and SIRT7 expression in adipose tissues of obese and normal-weight individuals is regulated by microRNAs but not by methylation status. *Int J Obes (Lond)*. 2016;40(11):1635-42.
74. Marsetti PS, Milagro FI, Zulet M, Martínez JA, Lorente-Cebrián S. Changes in miRNA expression with two weight-loss dietary strategies in a population with metabolic syndrome. *Nutrition*. 2021;83:111085.
75. Mantilla-Escalante DC, López de Las Hazas MC, Gil-Zamorano J, Del Pozo-Acebo L, Crespo MC, Martín-Hernández R, et al. Postprandial Circulating miRNAs in Response to a Dietary Fat Challenge. *Nutrients*. 2019;11(6).
76. Fernández-Sanjurjo M, de Gonzalo-Calvo D, Fernández-García B, Díez-Robles S, Martínez-Canal Á, Olmedillas H, et al. Circulating microRNA as Emerging Biomarkers of Exercise. *Exerc Sport Sci Rev*. 2018;46(3):160-71.
77. Russo A, Bartolini D, Mensà E, Torquato P, Albertini MC, Olivieri F, et al. Physical Activity Modulates the Overexpression of the Inflammatory miR-146a-5p in Obese Patients. *IUBMB Life*. 2018;70(10):1012-22.
78. Párrizas M, Brugnara L, Esteban Y, González-Franquesa A, Canivell S, Murillo S, et al. Circulating miR-192 and miR-193b are markers of prediabetes and are modulated by an exercise intervention. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(3):E407-15.
79. Parr EB, Camera DM, Burke LM, Phillips SM, Coffey VG, Hawley JA. Circulating MicroRNA Responses between 'High' and 'Low' Responders to a 16-Wk Diet and Exercise Weight Loss Intervention. *PLoS One*. 2016;11(4):e0152545.
80. Galanakis CG, Daskalakis M, Manios A, Xyda A, Karantanis AH, Melissas J. Computed tomography-based assessment of abdominal adiposity changes and their impact on metabolic alterations following bariatric surgery. *World J Surg*. 2015;39(2):417-23.
81. Hubal MJ, Nadler EP, Ferrante SC, Barberio MD, Suh JH, Wang J, et al. Circulating adipocyte-derived exosomal MicroRNAs associated with decreased insulin resistance after gastric bypass. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25(1):102-10.
82. Atkin SL, Ramachandran V, Yousri NA, Benurwar M, Simper SC, McKinlay R, et al. Changes in Blood microRNA Expression and Early Metabolic Responsiveness 21 Days Following Bariatric Surgery. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:773.
83. Chapado LA, Martín-Hernández R, Hernández de la Red S, Tomé-Carneiro J, Gil-Zamorano J, Ruiz-Roso MB, et al. Connection between miRNA Mediation and the Bioactive Effects of Broccoli. *J Agric Food Chem*. 2021;69(32):9326-37.
84. Del Pozo-Acebo L, López de Las Hazas MC, Margollés A, Dávalos A, García-Ruiz A. Eating microRNAs: pharmacological opportunities for cross-kingdom regulation and implications in host gene and gut microbiota modulation. *Br J Pharmacol*. 2021;178(11):2218-45.
85. Blondal T, Jensby Nielsen S, Baker A, Andreassen D, Mouritzen P, Wrang Teilmum M, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. *Methods*. 2013;59(1):S1-6.
86. Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, Takeshita F, Matsuki Y, Ochiya T. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem*. 2010;285(23):17442-52.
87. Guay C, Regazzi R. Circulating microRNAs as novel biomarkers for diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9(9):513-21.
88. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(30):10513-8.
89. Tian T, Wang J, Zhou X. A review: microRNA detection methods. *Org Biomol Chem*. 2015;13(8):2226-38.
90. Gevaert AB, Witvrouw I, Vrints CJ, Heidbuchel H, Van Craenenbroeck EM, Van Laere SJ, et al. MicroRNA profiling in plasma samples using qPCR arrays: Recommendations for correct analysis and interpretation. *PLoS One*. 2018;13(2):e0193173.
91. Chen L, Heikkinen L, Wang C, Yang Y, Sun H, Wong G. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Brief Bioinform*. 2019;20(5):1836-52.
92. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D68-73.
93. Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol*. 2019;234(5):5451-65.
94. Bugnon LA, Yones C, Milone DH, Stegmayer G. Genome-wide discovery of pre-miRNAs: comparison of recent approaches based on machine learning. *Brief Bioinform*. 2021;22(3).
95. Lorenz R, Bernhart SH, Höner Zu Siederdisen C, Tafer H, Flamm C, Stadler PF, et al. ViennaRNA Package 2.0. *Algorithms Mol Biol*. 2011;6:26.
96. Bellaousov S, Reuter JS, Seetin MG, Mathews DH. RNAstructure: Web servers for RNA secondary structure prediction and analysis. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Web Server issue):W471-4.
97. Friedländer MR, Mackowiak SD, Li N, Chen W, Rajewsky N. miRDeep2 accurately identifies known and hundreds of novel microRNA genes in seven animal clades. *Nucleic Acids Res*. 2012;40(1):37-52.

98. Hackenberg M, Rodríguez-Ezpeleta N, Aransay AM. miRanalyzer: an update on the detection and analysis of microRNAs in high-throughput sequencing experiments. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(Web Server issue):W132-8.
99. Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. miRWalk--database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes. *J Biomed Inform.* 2011;44(5):839-47.
100. Chou CH, Shrestha S, Yang CD, Chang NW, Lin YL, Liao KW, et al. miRTarBase update 2018: a resource for experimentally validated microRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D296-D302.
101. Karagkouni D, Paraskevopoulou MD, Chatzopoulos S, Vlachos IS, Tastsoglou S, Kanellos I, et al. DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D239-D45.
102. Jiang Q, Wang Y, Hao Y, Juan L, Teng M, Zhang X, et al. miR2Disease: a manually curated database for microRNA deregulation in human disease. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(Database issue):D98-104.
103. Piñero J, Bravo À, Queralt-Rosinach N, Gutiérrez-Sacristán A, Deu-Pons J, Centeno E, et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. *Nucleic Acids Res.* 2017;45(D1):D833-D9.
104. Huang Z, Shi J, Gao Y, Cui C, Zhang S, Li J, et al. HMDD v3.0: a database for experimentally supported human microRNA-disease associations. *Nucleic Acids Res.* 2018.
105. Pathan M, Fonseka P, Chitti SV, Kang T, Sanwlani R, Van Deun J, et al. Vesiclepedia 2019: a compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D516-D9.
106. Keerthikumar S, Chisanga D, Ariyaratne D, Al Saffar H, Anand S, Zhao K, et al. ExoCarta: A Web-Based Compendium of Exosomal Cargo. *J Mol Biol.* 2016;428(4):688-92.
107. Liu C, Zhang F, Li T, Lu M, Wang L, Yue W, et al. MirSNP, a database of polymorphisms altering miRNA target sites, identifies miRNA-related SNPs in GWAS SNPs and eQTLs. *BMC Genomics.* 2012;13:661.
108. Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Res.* 2002;30(1):207-10.
109. Zhou L, Xu DY, Sha WG, Shen L, Lu GY, Yin X. Long non-coding MIAT mediates high glucose-induced renal tubular epithelial injury. *Biochemical and biophysical research communications.* 2015;468(4):726-32.
110. Miranda K, Yang X, Bam M, Murphy EA, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. MicroRNA-30 modulates metabolic inflammation by regulating Notch signaling in adipose tissue macrophages. *Int J Obes (Lond).* 2018;42(6):1140-50.
111. Dávalos A, Pinilla L, López de Las Hazas MC, Pinto-Hernández P, Barbé F, Iglesias-Gutiérrez E, et al. Dietary microRNAs and cancer: A new therapeutic approach? *Semin Cancer Biol.* 2021;73:19-29.
112. Dávalos A, Fernández-Hernando C. From evolution to revolution: miRNAs as pharmacological targets for modulating cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Pharmacol Res.* 2013;75:60-72.
113. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science.* 2010;327(5962):198-201.
114. Zaiou M, El Amri H, Bakillah A. The clinical potential of adipogenesis and obesity-related microRNAs. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2018;28(2):91-111.
115. ClinicalTrials.gov UNLoM. 2016.
116. Medicine. UNLo. ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02612662>. 2015.
117. Krutzfeldt J, Kuwajima S, Braich R, Rajeev KG, Pena J, Tuschl T, et al. Specificity, duplex degradation and subcellular localization of antagomirs. *Nucleic acids research.* 2007;35(9):2885-92.
118. Cioffi M, Vallespinos-Serrano M, Trabulo SM, Fernandez-Marcos PJ, Firmant AN, Vazquez BN, et al. MiR-93 Controls Adiposity via Inhibition of Sirt7 and Tbx3. *Cell Rep.* 2015;12(10):1594-605.
119. Rizvi NF, Smith GF. RNA as a small molecule druggable target. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017;27(23):5083-8.
120. van Rooij E, Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age. *EMBO molecular medicine.* 2014;6(7):851-64.