

Editorial

Los niveles de miR-16 inducen estrés de retículo en la cardiomiopatía dilatada isquémica



miR-16 induces endoplasmic reticulum stress in ischemic dilated cardiomyopathy

Sandra Sánchez-Esteban^a, Carlos Zaragoza^{b,c} y Marta Saura^{a,c,*}^aUnidad de Fisiología, Departamento de Biología de Sistemas, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España^bDepartamento de Cardiología, Unidad Mixta de Investigación Cardiovascular, Universidad Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, Madrid, España^cCentro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), España

La miocardiopatía dilatada (MCD) es la segunda causa más frecuente de insuficiencia cardíaca después de la cardiopatía isquémica y constituye la principal causa de trasplante cardíaco, con una prevalencia de entre 1/2.500 y 1/250¹. La MCD es 3 veces más frecuente en los varones y afecta principalmente a adultos jóvenes de entre 30 y 50 años². Puede clasificarse en una forma isquémica y una forma no isquémica de la enfermedad. La MCD isquémica (MCDi) se asocia con enfermedades coronarias y afecta aproximadamente a un 50% del total de pacientes¹, mientras que las etiologías no isquémicas se han subdividido en: a) MCD familiar, causada por trastornos genéticos³; b) MCD infecciosa asociada con miocarditis, y c) MCD idiopática, puesto que en casi la mitad de los casos de MCD no isquémica sigue sin conocerse la etiología exacta². Por lo tanto, aclarar cuáles son los principales mecanismos que causan la MCD es crucial para tratar correctamente la enfermedad.

Una complicación importante de la MCD es el retraso en el diagnóstico de los pacientes, que en su mayoría están asintomáticos durante largos periodos. Los pacientes no diagnosticados presentarán una disfunción contráctil grave (fracción de eyección del ventrículo izquierdo < 45%) y un remodelado ventricular que tendrán una repercusión importante en empeoramiento de la calidad de vida. Para establecer biomarcadores específicos tempranos y no invasivos de la MCD, la comunidad científica estudia actualmente la expresión de diversos microRNA (miRNA) específicos como posibles indicadores y herramientas terapéuticas. A este respecto, el artículo de Calderon-Dominguez et al.⁴ recientemente publicado en *Revista Española de Cardiología* aporta nueva luz sobre el papel del microRNA-16-5p (miR-16) en los mecanismos fisiopatológicos asociados con la MCDi. Los miRNA son RNA cortos no codificantes, de una longitud de 20–22 nucleótidos, que silencian la expresión de genes específicos tras la transcripción. Pueden participar en la regulación de múltiples procesos celulares, y en los últimos años se ha estudiado ampliamente su intervención en la génesis de varias enfermedades⁵. En el sistema cardiovascular, los miRNA desempeñan un papel importante en el desarrollo y la reparación cardiovasculares, ya que regulan la proliferación y la diferenciación de las células madre y progenitoras. También intervienen en el correcto

funcionamiento de los miocardiocitos, las células endoteliales y de músculo liso y la comunicación intercelular⁶.

Varios miRNA están relacionados con una disregulación de los principales procesos biológicos involucrados en la homeostasis cardíaca, incluidas las respuestas de estrés, la autofagia y la apoptosis. Por ejemplo, la sobreexpresión de miR-221 y miR-222 da lugar a una inhibición autofágica a través de la activación de mTOR y a un remodelado patológico del miocardio^{7,8}, mientras que en el corazón isquémico la sobreexpresión del miR-16 se ha relacionado con un aumento de la apoptosis en el miocardio a través de la acción dirigida a la proteína antiapoptótica BCL2⁹. Varios estudios han intentado investigar la relación entre los miRNA y la MCD. A este respecto, Ikeda et al.¹⁰ identificaron un patrón de expresión diferente y específico de miR-17-5p, miR-28 y miR-106a en el ventrículo izquierdo de los pacientes con MCD en comparación con lo observado en personas sanas, pacientes con miocardiopatía isquémica y pacientes con estenosis aórtica. Se han descrito también firmas de miRNA en plasma específicas de etiologías isquémicas e idiopáticas de la MCD¹¹ y en un estudio reciente se identificó un perfil de miRNA circulante con una expresión diferencial en la MCD relacionada con la variante BAG3, formado por miR-154-5p, miR-182-5p, miR-3191-3p, miR-6769b-3p y miR-6855-5p¹².

Aunque los métodos diagnósticos basados en el miRNA parecen muy prometedores, los tratamientos basados en ello están aún lejos de ser una realidad, y será necesario alcanzar un conocimiento profundo del papel de los miRNA en la fisiopatología de la enfermedad. En su estudio, Calderon-Dominguez et al.⁴ se centraron en el miR-16. Como ya se ha mencionado, hay múltiples estudios que han asociado miRNA específicos con diferentes etiologías de la MCD^{11,12}. Este estudio confirma una investigación previa en la que se analizaron miRNA circulantes como biomarcadores en la MCD relacionada con la lamina A/C¹³ y se presenta el miR-16 como un nuevo posible biomarcador no invasivo para el diagnóstico de la MCDi. Hay varios elementos de evidencia que indican una relación entre el miR-16 y la fisiopatología de la MCD, puesto que tanto el miR-16 circulante como el específico de tejidos agravan la lesión del infarto de miocardio, como mínimo a través de la inducción de la apoptosis y la reducción de la angiogénesis¹⁴.

Para correlacionar la expresión del miR-16 con la MCDi, los autores analizaron el plasma de personas sanas (n = 76) y de pacientes con MCDi (n = 60) o MCD familiar relacionada con la variante BAG3 (n = 32). Tan solo se consideró aptas para el estudio a las personas de edad superior a 18 años, y las medias de edad de los participantes fueron 38,3 ± 11,8, 68,2 ± 8,3 y 42,3 ± 15,3 años

VÉASE CONTENIDO RELACIONADO:

<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2020.08.030>

* Autor para correspondencia: Universidad de Alcalá, Autovía Madrid-Barcelona km 33,500, 28805 Alcalá de Henares, Madrid, España.
Correo electrónico: marta.saura@uah.es (M. Saura).

<https://doi.org/10.1016/j.recesp.2021.03.006>

0300-8932/© 2021 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

en los grupos de control, MCDi y MCD familiar respectivamente. En el estudio, la expresión de miR-16 fue 1,34 veces mayor en el plasma de los pacientes con MCDi que en el de los participantes sanos pero, sorprendentemente, los autores no observaron diferencias entre el grupo de MCD familiar y el grupo de control, lo cual indica que el aumento de expresión de miR-16 circulante puede ser específico de la MCDi. El análisis mostró una sensibilidad del 75,0% y una especificidad del 56,2% para identificar a pacientes con MCDi de las personas sanas. Un análisis de regresión logística multivariante puso de manifiesto que los parámetros de ecocardiografía, como el índice de esfericidad y la onda sistólica máxima del Doppler tisular, junto con la concentración plasmática de miR-16, se asociaban con la MCDi.

El objetivo principal del estudio fue esclarecer el papel del miR-16 en el corazón. Mediante la sobreexpresión del miR-16 en la línea celular AC16 de miocardiocitos humanos, los autores observaron una reducción del 64% en la viabilidad celular y un aumento significativo de biomarcadores específicos de insuficiencia cardíaca como el péptido natriurético y la troponina T miocárdica. Además, la sobreexpresión de miR-16 indujo la apoptosis de los miocardiocitos al reducir la cantidad de mRNA BCL-2 proapoptótico y aumentar la activación de la caspasa-3. Por otra parte, los autores observaron un aumento de las concentraciones de mRNA de la proteína homóloga c/EBP (CHOP), que es el efector apoptótico final de la respuesta a proteínas con un plegamiento alterado (UPR). Estos resultados indican que el miR-16 podría inducir el estrés del retículo endoplásmico (RE). Además, en el contexto de la MCDi, la falta de oxígeno aumenta drásticamente el estrés oxidativo de los miocardiocitos, lo cual puede dañar componentes proteicos celulares y dar lugar a un estrés del RE¹⁵. Para reducir el estrés del RE, las células inician 2 vías principales de señalización, la de la UPR y la degradación relacionada con el RE (ERAD), que comprende la ERAD dependiente de ubiquitina-proteasomas y la ERAD dependiente de autofagia-lisomas. Sin embargo, el estrés crónico del RE o la desregulación de la UPR pueden conducir a una apoptosis prematura y a una respuesta inflamatoria exagerada¹⁶. Varios estudios señalan que la autofagia está activada en la MCD¹⁷.

Para estudiar en profundidad las consecuencias moleculares de sus observaciones, los autores analizaron la respuesta de estrés del RE mediante el examen de la expresión génica de efectores de la ERAD y de la UPR. La UPR está formada por 3 vías diferentes: enzima que requiere inositol 1 (IRE1), factor de transcripción activador 6 (ATF6) y la cinasa de RE similar a proteincinasa (PERK)-factor de inicio de traslación eucariota (eIF-2 α). La sobreexpresión de miR-16 promovió la activación de la UPR a través del aumento de la expresión del mRNA de PERK/CHOP: PERK, ATF4, CHOP y la respuesta ERAD (expresión génica de EDEM y EO-9). En cambio, hubo una regulación negativa de las ramas de GRP78 (concentraciones de proteína y de ARNm), ATF6 y XBP1. Los autores apuntan que esta regulación negativa puede deberse a que ATF6 sea una diana directa del miR-16 o a la inhibición general de la traslación de proteínas por la vía de PERK/CHOP. No obstante, será necesaria una mayor investigación de la activación inusual de la UPR. Los miocardiocitos con sobreexpresión de miR-16 expresaban también niveles elevados de ARNm de la citocina proinflamatoria interleucina 1 β , lo cual indica la existencia de un vínculo entre la vía de PERK/CHOP activada por el miR-16 y la inflamación.

A continuación, los autores estudiaron la autofagia, puesto que el análisis *in silico* indicó que el gen *ATFG14* relacionado con la autofagia es una posible diana del miR-16. Las concentraciones de proteína y ARNm de *ATFG14* mostraron una significativa regulación negativa en los miocardiocitos con sobreexpresión de miR-16, lo cual indica una regulación negativa de la autofagia. Sin embargo, el aumento de autofagosomas y el elevado flujo de autofagia medido por el cociente LC 3BII/I indicaron una activación de la autofagia, mientras que no hubo un aumento de las proteínas p62 y beclina en estas situaciones. El conocimiento de los mecanismos que subyacen

a la autofagia inducida por el miR-16 podría ser útil para respaldar el uso futuro del miR-16 como herramienta diagnóstica.

Por último, los autores también trataron de esclarecer la cronología de los procesos que conducen a la apoptosis y la autofagia de los miocardiocitos, y observaron que se producen cambios en la expresión génica de la vía de la UPR en un plazo de 6 h tras la sobreexpresión de miR-16, con un aumento de las concentraciones de ARNm de CHOP. No obstante, no se observó una regulación positiva de genes dependientes de la autofagia hasta las 24 h, lo cual indica que la UPR precede a la autofagia en esta línea celular. Cabe especular con la posibilidad de que la vía de la UPR no sea capaz de afrontar por sí sola el estrés del RE y se active la autofagia para restablecer la homeostasis proteica.

En resumen, el trabajo de Calderon-Dominguez et al.⁴ revela un efecto no caracterizado anteriormente del miR-16 en la MCD de origen isquémico. La sobreexpresión del miRNA potencia varias vías, y ello da lugar a la apoptosis y la autofagia, con lo que constituye un nuevo mecanismo molecular para la acción del miR-16 de regulación de la homeostasis proteica en esta miocardiopatía.

FINANCIACIÓN

Los autores no recibieron ninguna financiación para este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

No se declara ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Hershberger RE, Hedges DJ, Morales A. Dilated cardiomyopathy: The complexity of a diverse genetic architecture. *Nat Rev Cardiol.* 2013;10:531-547.
- Merlo M, Cannatà A, Gobbo M, Stolfo D, Elliott PM, Sinagra G. Evolving concepts in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2018;20:228-239.
- Barriales-Villa R, Ochoa JP, Larrañaga-Moreira JM, et al. isk predictors in a Spanish cohort with cardiac laminopathies. The REDLAMINA registry. *Rev Esp Cardiol.* 2021;74:216-224.
- Calderon-Dominguez M, Mangas A, Belmonte T, Quezada-Feijoo M, Ramos M, Toro R. Ischemic dilated cardiomyopathy pathophysiology through microRNA-16-5p. *Rev Esp Cardiol.* 2021;74:740-749.
- Siasos G, Bletsas E, Stampoulouglou PK, et al. MicroRNAs in cardiovascular disease. *Hell J Cardiol.* 2020;61:165-173.
- Wojciechowska A, Braniewska A, Kozar-Kamińska K. MicroRNA in cardiovascular biology and disease. *Adv Clin Exp Med.* 2017;26:865-874.
- Su M, Chen Z, Wang C, et al. Cardiac-Specific Overexpression of miR-222 Induces Heart Failure and Inhibits Autophagy in Mice. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39:1503-1511.
- Su M, Wang J, Wang C, et al. MicroRNA-221 inhibits autophagy and promotes heart failure by modulating the p70/S6K1/mTOR axis. *Cell Death Differ.* 2015;22:986-999.
- Liu X, Nie J, Li C. Targeted regulation of Bcl 2 by miR-16 for cardiomyocyte apoptosis after cardiac infarction. *Int J Clin Exp Pathol.* 2017;10:4626-4632.
- Ikeda S, Kong SW, Lu J, et al. Altered microRNA expression in human heart disease. *Physiol Genomics.* 2007;31:367-373.
- Onrat ST, Onrat E, Ercan Onay E, Yallm Z, Avşar A. The genetic determination of the differentiation between ischemic dilated cardiomyopathy and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2018;22:644-651.
- Zaragoza C, Saura M, Hernández I, et al. Differential expression of circulating miRNAs as a novel tool to assess BAG3-associated familial dilated cardiomyopathy. *Biosci Rep.* 2019;39:BSR 20180934.
- Toro R, Blasco-Turrión S, Morales-Ponce FJ, et al. Plasma microRNAs as biomarkers for Lamin A/C-related dilated cardiomyopathy. *J Mol Med.* 2018;96:845-856.
- Liu J, Sun F, Wang Y, et al. Suppression of microRNA-16 protects against acute myocardial infarction by reversing beta2-adrenergic receptor downregulation in rats. *Oncotarget.* 2017;8:20122-20132.
- Bulteau AL, Lundberg KC, Humphries KM, et al. Oxidative Modification and Inactivation of the Proteasome during Coronary Occlusion/Reperfusion. *J Biol Chem.* 2001;276:30057-30063.
- Koksal AR, Verne GN, Zhou Q. Endoplasmic reticulum stress in biological processing and disease. *J Investig Med.* 2021;69:309-315.
- Saito T, Asai K, Sato S, et al. Autophagic vacuoles in cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy with initially decompensated heart failure predict improved prognosis. *Autophagy.* 2016;12:579-587.