

## MicroARN y sus mecanismos neuroinmunorreguladores en la esclerosis múltiple. Desarrollo de biomarcadores para su diagnóstico

M. Marisela Sánchez-Chaparro, Iram P. Rodríguez-Sánchez, Hugo A. Barrera-Saldaña, Laura E. Martínez-Villarreal, Diana Resendez-Pérez, Idalia A. Gámez-Escobedo

Departamento de Biología del Desarrollo, Facultad de Ciencias Biológicas (M.M. Sánchez-Chaparro, D. Resendez-Pérez); Departamento de Genética (I.P. Rodríguez-Sánchez, L.E. Martínez-Villarreal), Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular (H.A. Barrera-Saldaña); Facultad de Medicina; Universidad Autónoma de Nuevo León; Monterrey, Nuevo León. Escuela de Ciencias Biológicas; Unidad de Genómica Aplicada; Universidad Autónoma de Coahuila; Torreón, Coahuila, México (I.A. Gámez-Escobedo).

### Correspondencia:

Dra. Idalia Analí Gámez Escobedo.  
Unidad de Genómica Aplicada.  
Escuela de Ciencias Biológicas.  
Universidad Autónoma de Coahuila.  
Ctra. Torreón-Matamoros, km 7.5.  
El Águila. CP 27410. Torreón,  
Coahuila, México.

### Fax:

+52 (871) 7571795.

### E-mail:

idalia.gamez@uadec.edu.mx

### Agradecimientos:

Dr. Sergio Lozano, por la lectura crítica del manuscrito.

### Aceptado tras revisión externa:

15.01.15.

### Cómo citar este artículo:

Sánchez-Chaparro MM, Rodríguez-Sánchez IP, Barrera-Saldaña HA, Martínez-Villarreal LE, Resendez-Pérez D, Gámez-Escobedo IA. MicroARN y sus mecanismos neuroinmunorreguladores en la esclerosis múltiple. Desarrollo de biomarcadores para su diagnóstico. Rev Neurol 2015; 60: 562-71.

© 2015 Revista de Neurología

**Introducción.** Los microARN (miARN) son moléculas que han generado gran atención como reguladores de procesos de silenciamiento génico en diferentes organismos. La desregulación de los mecanismos efectuados por estas moléculas se vincula al desarrollo y progresión de los trastornos relacionados con el sistema inmune. Diferentes estudios exponen que los miARN desempeñan un papel fundamental en procesos neuronales e inmunes, y se relacionan con los mecanismos de las enfermedades que afectan ambos sistemas. La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad neurodegenerativa debida a la desmielinización axonal causada por procesos autoinmunes.

**Objetivo.** Mostrar la estrecha relación de las funciones regulatorias de los miARN en vías de señalización neuroinmunológicas en el desarrollo de la EM, así como su estudio como biomarcadores diagnósticos para su uso en pacientes.

**Desarrollo.** En la literatura científica se ha estudiado y establecido el papel de los miARN como moduladores de los procesos celulares. Sin embargo, poco se ha abordado sobre su funcionalidad en las células gliales dentro de los procesos de plasticidad neuronal, regulación de la desmielinización y reconstitución axonal, por lo que su revisión constituye el propósito de este escrito. Además, algunos miARN previamente evaluados se describen para su enfoque diagnóstico para la detección, curso y tratamiento de la EM, y se encuentran en investigación o implementación.

**Conclusiones.** Existe una fuerte evidencia del papel que realizan los miARN en los mecanismos homeostáticos axonales durante la evolución de la EM. Esto representa un área de estudio para explorar el uso de estas moléculas para la comprensión de esta enfermedad, su diagnóstico oportuno y la evolución en los pacientes.

**Palabras clave.** Biomarcadores. Diagnóstico. Esclerosis múltiple. Inmunorregulación genética. MicroARN. Sistema inmune.

## Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la desmielinización, neurodegeneración y presencia de lesiones crónicas del sistema nervioso central. La etiología de la EM no se comprende completamente; sin embargo, se sabe que algunos procesos inmunes celulares y moleculares están involucrados en el desarrollo y progresión de esta patología. La regulación génica se ha establecido como una de las áreas más importantes de estudio de la biomedicina y ha mostrado importantes avances en los últimos años. Uno de estos avances ha sido el descubrimiento de microARN (miARN), que son moléculas de ARN monocatenario con 19-25 nucleótidos de longitud [1], cuya función principal es la regulación postranscripcional de los ARN mensajeros (ARNm) por hibridación a sus regiones 3' no traducibles (3'UTR, del inglés *untranslated region*), lo que resulta en la represión o degradación de traducción de ese ARNm (silencia-

miento genético) [2]. Los miARN regulan aproximadamente el 30% de los genes humanos y desempeñan un papel importante en la diferenciación celular y los procesos fisiológicos y patológicos, entre los que destacan la autoinmunidad y la neurodegeneración en patologías como la EM.

## Biogénesis y función de los miARN

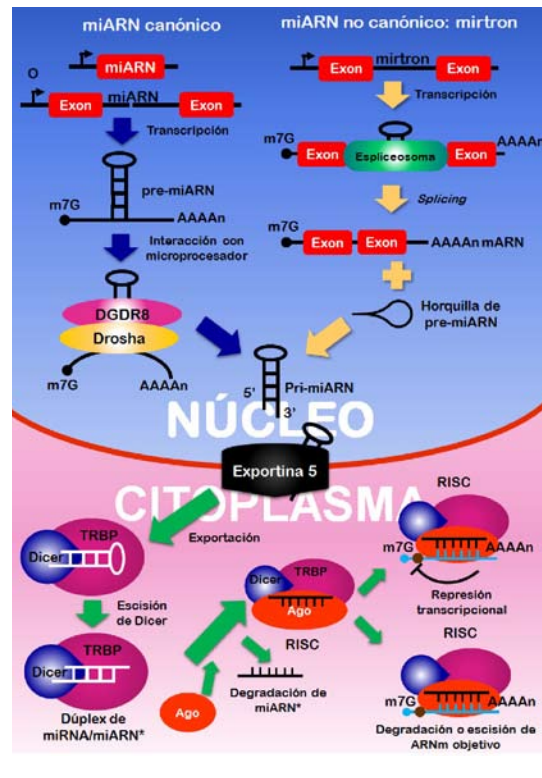
La actividad de los miARN se identificó por primera vez en el ARN *lin-4* en *Caenorhabditis elegans* en 1993 [1,3]. Sin embargo, hasta 2000 no se utilizó por primera vez el término de 'miARN' por parte del grupo de investigación de Ruvkun [4]. En los seres humanos, se han reconocido más de 45.000 sitios diana conservados para miARN dentro de las regiones 3'UTR de ARNm [2]. En el área de inmunología, estos mecanismos se han relacionado con las vías de señalización asociadas a la regulación de las funciones en las respuestas inmunes innata y

adaptativa, en el desarrollo y diferenciación de las células inmunes y en otros procesos inmunológicos. La síntesis y la función deficiente de los miARN se han relacionado con alteraciones del sistema inmune, que traen distintas consecuencias como mal proceso de tolerancia, entre las que se encuentran trastornos autoinmunes, como la EM, que se discutirá en esta revisión [5]. Existe numerosa bibliografía que sustenta el proceso de formación de los miARN. Éstos se sintetizan, principalmente, en zonas de intrones de genes codificantes para proteínas, pero otros pueden provenir de exones, de regiones intergénicas e incluso de secuencias repetitivas de ADN. Usualmente, los miARN codificados por intrones se relacionan con la regulación post-transcripcional del gen huésped y su especificidad tisular. La regulación de los miARN que se codifican de otras regiones se modula de manera independiente por medio de otros mecanismos [6-9].

Los miARN se transcriben del genoma por la ARN polimerasa II dependiente de ADN como un miARN primario (pri-miARN). Sin embargo, algunos conjuntos de genes de miARN humano usan la ARN polimerasa III para su transcripción. Los transcritos de pri-miARN tienen una longitud de 3-4 kb, estructuras 5'CAP, cadenas 3'poli-A y conformación secundaria. En seguida, los pri-miARN se escinden gracias a un complejo microprocesador integrado por la proteína DGCR8 y la enzima ARNasa III (Drosha) [6,10,11]. Este proceso genera uno o varios precursores de miARN (pre-miARN) con una estructura de lazo (*loop*) de ~70 nt de longitud dentro del núcleo celular [12]. Los pre-miARN son liberados al espacio citoplasmático con ayuda de la proteína Exportina-5, que es capaz de reconocer la conformación espacial de los pre-miARN [13]. En el citoplasma, los pre-miARN son procesados gracias a la enzima Dicer en miARN de doble cadena (ds-miARN) con tamaño de ~21 nt [14,15]. Este ds-miARN se desenrolla y sólo una de las cadenas del dúplex se unirá a la proteína Argonauta-2 (Ago2), integrando así el complejo de inducción de silenciamiento de ARN (RISC, del inglés *RNA-induced silencing complex*). RISC es el responsable de llevar a cabo la catálisis de escisión del ARNm, causando una represión de la traducción a proteína del mensajero. Los miARN se unen a sus sitios diana o de unión con una complementariedad imperfecta con respecto a las secuencias 3'UTR de los ARNm (Figura) [16].

Diversos procesos vitales, como el ciclo y diferenciación celular y la apoptosis, se regulan gracias a miARN, lo que representa el control de casi un tercio del total de los ARNm humanos [17]. Distintos informes han demostrado la importancia de los miARN

**Figura.** Biogénesis y mecanismos canónicos y no canónicos de generación de microARN (miARN). Los miARN pueden ser generados por exones codificantes o intrones. Ambas vías producen moléculas de ~21 nt de longitud. En animales, los miARN hibridan por complementación imperfecta a los sitios 3'UTR de los ARN mensajeros, unión que induce el silenciamiento genético.



en el desarrollo de diferentes patologías humanas en donde se involucra el sistema inmunológico, como el cáncer, inmunodeficiencias y autoinmidades [6,18,19]. Las interacciones entre los miARN y las secuencias complementarias de los genes diana han sido tema de estudio, ya que incluso existen pseudogenes que comparten homología en la secuencia de reconocimiento de miARN, lo que genera una analogía de regulación por competencia entre genes parálogos y causa diferentes niveles de expresión [20].

### Los miARN y su regulación inmunológica en enfermedades autoinmunes

La función de los miARN representa una piedra angular en la regulación del sistema inmunológico, que previene los ataques de patógenos, enfermedades autoinmunes y el cáncer. Sin embargo, muchos

de estos procesos aún no están completamente dilucidados. También los miARN se han empezado a usar como nuevas herramientas clínicas para el diagnóstico, pronóstico y terapia de diferentes patologías. La principal relevancia para el entendimiento de la modulación de los mecanismos inmunes dados por los miARN se debe a que estas moléculas controlan de manera precisa cascadas de señalización celular, reparación de daños, procesos inflamatorios y sistemas de vigilancia inmunológica. Los cambios en estas vías de señalización desencadenan defectos en la inmunidad innata y adaptativa y producen, en este caso, autoinmunidad [14-20].

Múltiples estudios han demostrado el papel clave de los miRNA en la hematopoyesis, ya que modulan la diferenciación y activación de las células, así como la regulación de la respuesta inmune [21, 22]. La represión en las células T puede conducir a diferentes tipos de patologías relacionadas con el sistema inmune. Adicionalmente, se ha observado que la ausencia de Dicer provoca la diferenciación aberrante de células T y conforma la importancia de este mecanismo de ribointerferencia como una clave en el complejo mecanismo de diferenciación hematopoyética. Por otro lado, los miARN están involucrados en las distintas cascadas de señales inmunológicas (Tabla I) [19,21]. Ejemplo de esto es la regulación que llevan a cabo las células de la respuesta adaptativa, en que miR-21, miR-221 y miR-22 inducen perfiles efectores en células *natural killer* y linfocitos T, así como procesos de memoria en células CD8<sup>+</sup> [22-24].

Las proteínas involucradas en el silenciamiento genético por miARN que son disfuncionales, como la familia de proteínas Ago, GW182 y Rck/p54, se encuentran relacionadas con distintos síntomas de trastornos neuronales e inflamatorios, como el síndrome de Sjögren y el lupus eritematoso sistémico. Incluso un grupo de autoanticuerpos denominados Su, que tienen la capacidad de reconocer Ago1, Ago3 y Ago4, así como Dicer, se ha encontrado en niveles aberrantes en pacientes con enfermedades reumáticas, y la deficiencia de Dicer desencadena una expresión alterada de células T reguladoras (T<sub>reg</sub>) y el factor de transcripción FoxP3. Además, en modelos murinos se mostró que estos fallos estimulan el desarrollo de cuadros autoinmunitarios [24,25].

### Papel de los miARN en el sistema nervioso central e inmune en el desarrollo de EM

La comprensión de cómo surgen los mecanismos autoinmunes es un tema con una amplia discusión

y, generalmente, todas las posturas concuerdan en que estos trastornos comienzan por la producción y la baja eliminación de autoanticuerpos. Un antígeno, ya sea propio o no propio, pasa por un sistema de reconocimiento llamado tolerancia, el cual distinguirá su origen. La tolerancia tiene diversas funciones, entre ellas, la eliminación de las células inmunitarias que pudieran reaccionar con antígenos propios, así como la inhibición de respuestas inmunitarias contra proteínas propias, dependiendo del órgano efector, ya que la tolerancia puede ocurrir en la médula ósea y en el timo (tolerancia central), o inducirse en los nódulos linfáticos u órganos especializados (tolerancia periférica) [23-26]. Sin embargo, los linfocitos autorreactivos o autoanticuerpos no se eliminan totalmente por el sistema inmunológico, y algunos permanecen circulantes, incluso en personas sanas, lo que parece indicar que las disfunciones en los sistemas de tolerancia central o periférica pueden conducir al desarrollo de autoinmidades. Esta evidencia presume la existencia de otros mecanismos de regulación que limitan la actividad de estas células autorreactivas [27].

El cerebro es un órgano complejo capaz de modular procesos inmunes utilizando péptidos, hormonas y neurotransmisores. Además, es capaz de detectar la inflamación periférica utilizando diferentes tipos de moléculas, como citocinas y otros reguladores. Los principales linajes celulares relacionados con el proceso inmunológico en el sistema nervioso central son las microglías, los macrófagos y los astrocitos [28]. Existe una clara evidencia del vínculo entre el sistema inmune y el sistema nervioso central, debido a que algunos defectos convergen en el desarrollo de neuroinflamación, produciendo enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas [28,29].

La EM es un trastorno inflamatorio, crónico y autoinmune del sistema nervioso central asociado a la desmielinización y degeneración axonal. Esta enfermedad genera síntomas desestabilizantes, como discapacidad sensorial, neuritis óptica, alteración motora, ataxia, disfunción de la vejiga, fatiga y déficit cognitivo [29,30]. Este trastorno se caracteriza por períodos de remisión-recaída seguidos de una fase progresiva dirigida por el sistema inmune adaptativo, en el que se encuentran involucrados linfocitos T cooperadores (T<sub>h</sub>) tipo 1 (T<sub>h</sub>1), T<sub>h</sub>17 y CD8<sup>+</sup>, los cuales se infiltran en el sistema nervioso central y generan ataques a este sistema. Las células T<sub>reg</sub> modulan la función de los linfocitos T<sub>h</sub>17, CD8<sup>+</sup> y los linfocitos B. La infiltración de células T inicia una cascada de señalización provocada por un 'epítipo' que causa nuevos ataques debido a la

**Tabla I.** Genes diana y procesos regulados por microARN (miARN) en funciones inmunitarias y celulares. Diferentes genes diana están involucrados en la pérdida de mielina. Los miARN ofrecen una excelente opción para el desarrollo de terapias de genes [19].

miARN	Gen o genes diana	Función inmune y celular
let-7e	<i>TLR4</i>	Regulación de la respuesta innata
miR-9	<i>NFKB1</i>	Regulación de la respuesta inflamatoria
miR-16	<i>TNF-α</i>	Unión a 3'UTR de motivos ARE, induce la degradación de TNF-α
miR-17-5p	<i>RUNX1</i>	Inhibición de la proliferación, diferenciación y maduración de monocitos; supervivencia de células <i>natural killer</i>
miR17~92 (Cluster)	<i>BIM, PTEN</i>	Regulación de pro a pretransición durante el desarrollo de células B y T; promueve la supervivencia de células B y T
miR-20a	<i>AML-1</i>	Inhibición de la proliferación, diferenciación y maduración de monocitos
miR-21	<i>PTEN, PDCDA, IL12A, Bim</i>	Regulación positiva en la respuesta a inflamación de los macrófagos vía TLR; regulación negativa de la activación de macrófagos
miR-32	<i>PFV1, ORF2</i>	Inhibición de la replicación de PFV1 vía direccionamiento al genoma viral
miR-34	<i>JAG1, WNT1, FOXP1</i>	Regulación de la diferenciación de células dendríticas mieloides
miR-10a	<i>AML-1</i>	Inhibición de la proliferación, diferenciación y maduración de monocitos
miR-122	<i>Dicer, Ago1</i>	Necesaria en la replicación de virus de la hepatitis C
miR-121/miR-122	<i>KIT</i>	Regula la proliferación de células troncales y progenitoras
miR-125b	<i>TNF-α</i>	Disminuye durante la respuesta a la inflamación, permitiendo así la producción de TNF-α
miR-126	<i>HOXA9, PLK2</i>	Promueve la expansión de las células progenitoras
miR-132	<i>MeCP2</i>	Regula la respuesta inmune a infecciones bacterianas; involucrada en la señalización CREB
miR-142	<i>AC9</i>	Reprimida por FOXP3, lo que lleva a una mayor producción de las funciones del AMPc y a la supresión de la función de células T <sub>reg</sub>
miR-146a	<i>TRAF6, IRAK1, IRAK2</i>	Aumenta la expresión de los macrófagos y las células epiteliales en respuesta a TLR-2, -4 y -5, activación o exposición a TNF-α o IL-10; regula la respuesta inmune a infecciones bacterianas
miR-150	<i>Myb</i>	Regula la producción de células B maduras; regula la transición desde pro a precélula B; regula la activación de células T; maduración de células <i>natural killer</i>
miR-155	<i>PU.1, MAF, SHIP1, AID, SOCS1, BACH1, CEBPB, CSPR, TAB2, JARID2</i>	Regula la respuesta inmune a infecciones bacterianas y virales; induce la señalización de TLR; regula TNF-α; requerida para las funciones normales de linfocitos, respuesta del centro germinal, cambio de clase, generación de plasmocitos; polarización de T <sub>H</sub> 1/T <sub>H</sub> 2, desarrollo de células T <sub>reg</sub> tímicas, proliferación de granulocitos y monocitos
miR-181a	<i>DUSP5, DUSP6, SHP2, PTPN22, BCL-22, CD69</i>	Regula el desarrollo de células B y T; modula la sensibilidad de linfocitos T a los antígenos por la regulación de la expresión de distintas fosfatasa en la señalización del receptor de células
miR-181b	<i>AID</i>	Involucrado en el cambio de clase de células B
miR-196b	<i>HOX family</i>	Papel funcional en la modulación homeostática y linajes de la célula madre hematopoyética
miR-223	<i>MEF2C</i>	Regulación de granulopoyesis
miR-326	<i>ETS1</i>	Promueve el desarrollo de células T <sub>H</sub> 17
miR-424	<i>NFIA, SPII</i>	Involucrada en la diferenciación y maduración de monocitos
miR-222	<i>Dicer Dgcr8 (Dependent)</i>	Reduce la proliferación o supervivencia al daño en células <i>natural killer</i>
miR-21, -221, -222	–	Efectores y desarrollo de memoria de células CD8 <sup>+</sup> , T y <i>natural killer</i>
miR-223	<i>Mef2c, NFI-A</i>	Involucrada en la regulación de la maduración de granulocitos y respuesta inflamatoria
miR-326	<i>ETS-1</i>	Promueve la diferenciación de células T <sub>H</sub> 17
miR-17-5p, -20a	<i>PI2KPI, PTEN</i>	Potencialmente involucrada en la regulación de la activación de células T

3'UTR: regiones 3' no traducibles; AMPc: adenosín monofosfato cíclico; ARE: elemento rico en adenina-uracilo; células Th: células T cooperadoras; células T<sub>reg</sub>: células T reguladoras; CREB: elemento de unión de respuesta a AMPc; IL: interleucina; PFV1: virus espumoso de primates tipo 1; TLR: receptores tipo Toll; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa.

**Tabla II.** MicroARN (miARN) desregulados en enfermedades desmielinizantes. En diversos trastornos desmielinizantes, los miARN tienen un deficiente trabajo y traen consigo el desarrollo de patologías cerebrales.

	miARN	Mecanismo
Esclerosis múltiple (trastorno inmune por oligodendropatía)	miR-155, -34a	<i>CD47</i>
	miR-326	<i>Els-1</i>
	miR-145, -146a	<i>TRAF6, IRAK1, IRAK2</i>
	hsa-miR-96, -18b, -599	Interleucina/señalización Wnt
	miR-17-5p, -20a	<i>PI2KPI, PTEN</i>
Apoplejía isquémica aguda (vulnerabilidad de oligodendrocitos a la lesión isquémica)	miR-145	<i>SOD2</i>
	miR-132	<i>MeCP2</i>
	miR-200b, -200c, -429	<i>PHD2</i>
Leucodistrofia	miR-23	<i>LMNB1</i> , mutación regulada por la pérdida de mielina

activación de las células presentadoras de antígenos del sistema inmune innato, como microglías, células dendríticas, astrocitos, etc. [31,32]. Se ha visto que existen sistemas de regulación no mediados únicamente por las células mencionadas, sino también por mecanismos de silenciamiento genético dado por miARN. Tal es el caso de miR-26a, que tiene un control importante sobre los linfocitos  $T_H17$  y  $T_{reg}$ , debido a que este miARN se correlaciona con la expresión del factor de transcripción FoxP3 [33].

Además, un gran número de miARN tiene una función desreguladora en las enfermedades desmielinizantes, ya que afecta a linajes como oligodendrocitos o células precursoras de oligodendrocitos (Tabla II). Los astrocitos son las células gliales más abundantes en el sistema nervioso central, las cuales fomentan la homeostasis y la regulación de la señalización neuronal, la supervivencia y la plasticidad sináptica. También estas células desempeñan un papel clave en la reparación del daño cerebral después de eventos de reactividad inmunológica [34]. Tanto miR-351 como miR-125 regulan algunos genes involucrados en las vías de señalización de interleucina 6 y factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$  activadas por exposición a lipopolisacáridos, así como la activación de interferón (IFN)- $\gamma$ . Además, miR-352 y miR-125, junto con miR-26b y miR-29a, son capaces de modular la función de los astrocitos [31,32,34].

La sobreexpresión de miR-155 provoca un aumento de la susceptibilidad del desarrollo de la EM. Esta predisposición la causan cuatro polimorfismos de nucleótido único (SNP) ubicados en un mapa de haplotipos de riesgos en el *locus* BIC/miR-155 [35]. Asimismo, las lesiones activas en la materia blanca de los pacientes con EM se observa en el miR-155 regulado de manera positiva en la materia blanca de sujetos sanos [36,37]. En un estudio de casos y controles, se encontraron diferentes subgrupos de miARN en el plasma sanguíneo. Los miR-614, miR-572, miR-648, miR-1826, miR-422a y miR-22 se encontraron sobreexpresados, al contrario que el miR-1979, que estaba regulado negativamente; en conjunto, estos miARN se encontraron asociados de manera significativa para los pacientes con EM [38]. Dentro de los sitios objetivo del miR-614 se encuentra *FoxD1*, gen que está implicado en la inducción y diferenciación neuronal y en la supresión de la activación de timocitos o células *T naïve* [39]. Asimismo, se ha predicho *in silico* un sitio de unión del miR-572 en el gen *NCAM1* que codifica para la molécula de adhesión neural 1. Esta última desempeña un papel primordial en los procesos de mielinización y remielinización axonal en la EM [39,40]. El mismo efecto se ha observado para el factor de transcripción NPAS3, mostrando diferentes genotipos entre grupos de pacientes con EM asociados con aquellos individuos que respondieron a terapia basada en IFN- $\gamma$  y respecto a aquellos que no lo hicieron [41].

Las moléculas de miARN han ligado en diversas funciones neuronales, como neurodegeneración, neurodesarrollo y función celular mieloide (Tabla III). Los niveles miR-132 y *let-7* intervienen en las vías de señalización realizadas por receptores tipo Toll (TLR), específicamente en las señales dadas por TLR4 y TLR7 [42]. En un modelo de encefalomyelitis autoinmune experimental y en uno de lesión cerebral humana, el miR-132 generó una supresión de la actividad de la acetilcolinesterasa, incentivando la transmisión colinérgica antiinflamatoria. Los miR-34a, miR-155 y miR-326 se expresaron en lesiones cerebrales activas; el sitio de unión para estos tres miARN se encontró en el ARNm de CD47, lo que sugiere que existe una reducción aguda de esta proteína que da lugar a la liberación de macrófagos en los controles inhibitorios y disminuye su acción en procesos de plasticidad sináptica [36, 43]. Por otro lado, tanto en individuos con EM como con un modelo de encefalomyelitis autoinmune experimental, se presenta una sobreexpresión de miR-326, que es un regulador negativo de la diferenciación  $T_H17$  [43-45].

Existen grupos de miARN que trabajan, en conjunto, para producir una señalización en una diana específica. Tal es el caso de miR-494 y miR-197, que se dirigen hacia el ligando de la superfamilia del TNF-14 (TNFSF14) [46]. La regulación de la diferenciación de los oligodendrocitos y el mantenimiento de la mielina en la patogénesis de las enfermedades desmielinizantes se lleva a cabo por un grupo de miARN integrado por miR-219, miR-138, miR-9, miR-23 y miR-19b. Este *cluster* ha demostrado la función esencial de los oligodendrocitos en el desarrollo cerebral y la función de las neuronas mediante la producción y el mantenimiento de la vaina de mielina que rodea los axones de vertebrados para entregar los potenciales de acción, y de esta manera asegurar la supervivencia de los axones [18,46]. Junto con esto, otros miARN tienen una acción importante en la neurogenia, y se ha observado que el procesamiento desregulado de estas moléculas promueve el desarrollo neuronal. Además, en modelos murinos *knock out* de  $\Delta$ -Dicer, induce un fenotipo de bajo desarrollo cerebral [47,48].

La infiltración de macrófagos y células dendríticas directamente dentro del sistema nervioso central se ha considerado un proceso necesario para la activación de las microglías. Este proceso se produce a través de señalizaciones de diversas quimiocinas e interleucinas [49,50]. Usualmente, las células microgliales se consideran como las responsables de la degradación de la mielina en el transcurso de padecimientos desmielinizantes. Sin embargo, en un modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental inducido por cuprizona, las microglías locales exhiben un fenotipo que fomenta la remielinización posterior a la eliminación de los restos de mielina, efecto que no se observa en situaciones desmielinizantes progresivas [50,51]. El miR-124 se expresa exclusivamente en microglías y macrófagos del sistema nervioso central, y esta molécula regula el cambio del fenotipo microglial activo (CD45<sup>hi</sup>MHCII<sup>+</sup>) a un estado quiescente (CD45<sup>lo</sup>MHCII<sup>-</sup>). Esto podría interpretarse como que miR-124 trabaja como un regulador negativo de microglías activadas y como modulador en el proceso de activación de monocitos y macrófagos [52].

Por otro lado, tanto miR-155 como miR-326 producen una señal aberrante de *'don't eat me'* ('no me comas') en macrófagos y microglías [35,43,53]. Esto es un problema, ya que, para inducir procesos de remielinización posterior a las situaciones de inflamación aguda activa y fases progresivas de la EM, se debe generar una mayor remoción de restos de mielina por vía fagocítica. Las células precursoras de oligodendrocitos usualmente se encuentran in-

**Tabla III.** Neurodesarrollo y funciones celulares inducidas por procesos de microARN (miARN). Linajes celulares vinculados a la plasticidad neuronal y remielinización con una estrecha relación con mecanismos de miARN [19].

miARN	Genes diana	Tipos de células
miR-219, -338	<i>NeuroD1, IS11, Otx2</i>	Diferenciación neuronal
miR-9	<i>PLX</i>	Células progenitoras de neuronas
miR-19b	<i>PTEN, PI3K</i>	Células progenitoras de neuronas
miR-184	<i>Bcl211</i>	Inducción de astrocitos
miR17~92 ( <i>cluster</i> )	<i>PI2KR1, PI3K/Akt/mTOR pathway</i>	Incrementa el número de oligodendrocitos e inhibe la activación de genes de células T asociadas a esclerosis múltiple
miR-219, -338	<i>PDGFa, SOX6, FoxJ3, FGFR2, HES5, ZFP238</i>	Células precursoras de oligodendrocitos
miR-9	<i>PMP22</i>	Células precursoras de oligodendrocitos
miR-138	<i>SOX4, UHRF1</i>	Células precursoras de oligodendrocitos
miR-199a-5p, -145	<i>C11orf9</i>	Células precursoras de oligodendrocitos
miR-23	<i>LMNB1</i>	Oligodendrocitos maduros, induce la mielinización por oligodendrocitos
miR-219	<i>ELOVL7</i>	Oligodendrocitos maduros, induce la mielinización por oligodendrocitos

diferenciadas alrededor de las lesiones de EM, actuando como un reservorio de células con el potencial de restauración de los axones, siempre y cuando exista una previa limpieza de la mielina degradada por las células fagocíticas y gliales [54,55].

### Los miARN circulantes como biomarcadores diagnósticos

El diagnóstico oportuno o la detección de la etapa exacta de una enfermedad es la principal ventaja de la medicina personalizada. En el caso de la EM, los criterios de McDonald y Posser son el método de referencia en su diagnóstico; ambos criterios se basan en distintas pruebas que evalúan clínicamente a un paciente. Principalmente se utilizan las imágenes de resonancia magnética, pruebas sanguíneas y de líquido cefalorraquídeo [53,56]. Sin embargo, el diagnóstico preciso para EM es complejo, ya que, principalmente, se basa en el diagnóstico por exclusión de otras enfermedades neurológicas [56].

Los biomarcadores son componentes moleculares capaces de medirse y evaluarse que representan

una condición o el estado fisiológico de un paciente [57]. La mayoría de los biomarcadores que se han propuesto para la evaluación, diagnóstico y pronóstico de los pacientes con EM es de origen peptídico y busca el grado de daño neurodegenerativo, el inicio de la remielinización o exacerbaciones de células y moléculas del sistema inmune o del sistema nervioso central para diferentes etapas de la enfermedad [58,59]. A pesar de la sensibilidad y especificidad de distintos biomarcadores, la cantidad de técnicas disponibles (qRT-PCR, secuenciación masiva, microarreglos, entre otras) hace que sea difícil adoptar y desarrollar una herramienta de diagnóstico consistente que alcance la categoría de 'referencia' para el diagnóstico de EM y que pueda ofrecer una ayuda real para el soporte clínico [58,59]. La posibilidad de un método sensible y específico de diagnóstico para esta enfermedad permitiría a los pacientes comenzar un tratamiento temprano, evitando las complicaciones que afectarían la calidad de vida de manera posterior.

Los miARN pueden encontrarse en diferentes fluidos biológicos, como sangre, saliva, orina, líquido cefalorraquídeo e incluso leche, por lo cual se denominan miARN circulantes [60-62]. Los miARN circulantes están protegidos de la degradación de ARNasa debido a que se encuentran aunados a lipoproteínas, exosomas y otros componentes derivados de microvesículas, por lo que la interacción con el miARN-macromolécula permite la presencia y funcionalidad de los genes miARN en el espacio extracelular [63,64]. Los perfiles de expresión de los miARN representan una posibilidad de desarrollar herramientas de diagnóstico potentes utilizando distintos tipos de muestras de un paciente. Lo complejos de suero de plasma de sangre periférica son los más utilizados en el diagnóstico de diferentes tipos de enfermedades (por ejemplo, patologías asociadas al cáncer) [58]. Sin embargo, en los trastornos neurodegenerativos, como la EM, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer, la relación entre el torrente sanguíneo y el cerebro está limitada por la barrera hematoencefálica, cuya función principal es evitar la entrada de agentes infecciosos de la sangre al cerebro y, por este motivo, los miARN en sangre no reflejan un estado real del sistema nervioso central [59,65]. No obstante, el líquido cefalorraquídeo es una muestra generada en el plexo coroideo, que puede ser absorbido en el torrente sanguíneo, por lo que este fluido biológico representa una muestra apropiada en la búsqueda de biomarcadores para EM y otras enfermedades del sistema nervioso central [59,65,66]. Además, el líquido cefalorraquídeo es una muestra que repre-

senta mejor el estado inmune de la sustancia blanca del paciente. Sin embargo, el principal inconveniente es el procedimiento de punción lumbar para obtener esta muestra, que aunque es una práctica rutinaria en el área neurológica, no deja de tener el carácter de procedimiento invasivo [67,68].

Existe una referencia sobre el papel de los miARN en los mecanismos neurológicos, así como de aquellos que se han propuesto como posibles dianas terapéuticas. Sin embargo, pocos estudios se han centrado en el uso de miARN para fines de diagnóstico y pronóstico. Algunas investigaciones han evaluado los niveles de expresión de miARN específicos (hs-miR-145 y miR-326) o SNP en regiones genómicas de miARN (miR-223, miR-23a, miR-15b). Los miR-326 y miR-26a en la sangre tienen la capacidad de discriminar eventos de recaída y remisión de las fases de la EM, y se han propuesto como biomarcadores pronósticos de su progresión. Por otro lado, el miR-326 está regulado positivamente en lesiones activas de desmielinización [68-71]. La EM se caracteriza por mostrar diferentes subtipos que dependen de la manera en cómo se presentan los episodios de recaídas, recuperación y evolución. El miR-181c y el miR-633 diferencian significativamente la EM remitente recurrente con respecto a la EM progresiva secundaria, con una sensibilidad y una especificidad del 82% y 69%, respectivamente [72].

Diferentes investigaciones han demostrado que los pacientes con EM presentan una regulación negativa de miR-16, el cual tiene un papel importante en la represión de la traducción del factor antiapoptótico *Bcl-2*, que induce la degradación de TNF- $\alpha$  e influye en la neurogenia y la pérdida de neuronas del hipocampo durante eventos de estrés [73,74]. Por otra parte, los *clusters* miR-17-92 y miR-19a mostraron una acción de supresión del crecimiento axonal, actuando como reguladores del desarrollo neuronal local [75]. Debido a que todos los miARN mencionados tienen un papel establecido y un alto nivel de asociación en los procesos neuroinmunológicos, estas moléculas poseen el potencial de utilizarse como biomarcadores.

Igualmente, los miARN pueden proporcionar información sobre la eficacia de los tratamientos para los pacientes con EM, como es el caso de miR-26a-5p, que se encuentra sobreexpresado en pacientes con EM remitente recurrente tratados con IFN- $\beta$  [76,77]. En el caso de pacientes con prescripción de natalizumab, utilizada para la reducción del impacto y número de recaídas y la discapacidad, provoca un aumento de *let-7c*, miR-125a-5p y miR-642. Sin embargo, el tratamiento de natalizumab tiene efectos secundarios negativos, como un aumento del riesgo

de desarrollar leucoencefalopatía multifocal progresiva, aspecto que puede detectarse por la sobreexpresión de las moléculas miR-320, miR-320b y miR-629 en los pacientes con EM, ya que éstos se relacionan con esta complicación [73,78].

A pesar de todo lo expuesto, la validez en el uso de biomarcadores basados en el análisis de miARN asociados con el diagnóstico, evolución y reacción a tratamientos en la EM debe tener en cuenta un sinnúmero de situaciones, como la muestra de ensayo, aspectos clínicos y la propia metodología utilizada para la determinación de un biomarcador de un miARN específico que se va a evaluar.

## Conclusiones

Los miARN merecen una mención especial como parte de los mecanismos implicados en el desarrollo, mantenimiento o disminución de los procesos involucrados en la EM. Las dianas genéticas de estas moléculas en el sistema inmune deben abordarse en conjunto con las dianas existentes estrechamente relacionadas con el sistema nervioso central. Esto puede guiarse con células del linaje glial, oligodendrocitos o células precursoras de oligodendrocitos, las cuales están involucradas en los procesos de la neuroinflamación y reconstitución axonal. La búsqueda de nuevos miARN implicados en las funciones inmunes y neurodegenerativas podría resultar en el desarrollo de herramientas terapéuticas y diagnóstico que se pueden utilizar en enfermedades como la EM. Adicionalmente, se puede proporcionar un mayor conocimiento de la relación neuroinmunológica producida por factores genéticos. Sin embargo, el área de biomarcadores basada en el comportamiento de miARN que se usa para el diagnóstico de EM aún está en proceso. El desarrollo de técnicas que explotan los beneficios de miARN circulantes permitiría una mejor intervención clínica, un mayor conocimiento de la evolución de la enfermedad, y, en última instancia, la generación de terapias génicas dirigidas a reguladores del sistema inmune y neuronal.

## Bibliografía

- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-54.
- Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 1993; 75: 855-62.
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009; 19: 92-105.
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Bettinger JC, Pasquinelli AE, Rougvie AE, et al. The 21 nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-6.
- Kusenda B, Mraz M, Mayer J, Pospisilova S. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006; 150: 205-15.
- Tufekci KU, Oner MG, Genc S, Genc K. MicroRNAs and multiple sclerosis. *Autoimmune Dis* 2010; 2011: 807426.
- Zeng Y. Principles of micro-RNA production and maturation. *Oncogene* 2006; 25: 6156-62.
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell* 2004; 116: 281-97.
- Smalheiser NR, Torvik VI. Mammalian microRNAs derived from genomic repeats. *Trends Genet* 2005; 21: 322-6.
- Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, et al. The microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature* 2004; 432: 235-40.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-9.
- Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Transl Res* 2011; 157: 163-79.
- Kim VN, Nam JW. Genomics of microRNA. *Trends Genet* 2006; 22: 165-73.
- Filipowicz W. RNAi: the nuts and bolts of the RISC machine. *Cell* 2005; 122: 17-20.
- Ketting RE, Fischer SEJ, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RHA. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*. *Genes Dev* 2001; 15: 2654-9.
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20.
- Pauley KM, Cha S, Chan EKL. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2009; 32: 189-94.
- He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005; 435: 828-33.
- Li JS, Yao ZX. MicroRNAs: novel regulators of oligodendrocyte differentiation and potential therapeutic targets in demyelination-related diseases. *Mol Neurobiol* 2012; 45: 200-12.
- Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta stone of a hidden RNA language. *Cell* 2011; 146: 353-8.
- Carissimi C, Fulci V, Macino G. MicroRNAs: novel regulators of immunity. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 520-4.
- Anglicheau D, Muthukumar T, Suthanthiran M. MicroRNAs: small RNAs with big effects. *Transplantation* 2010; 90: 105-12.
- Cobb BS, Hertweck A, Smith J, O'Connor E, Graf D, Cook T, et al. A role for Dicer in immune regulation. *J Exp Med* 2006; 203: 2519-27.
- Zhou X, Jeker LT, Fife BT, Zhu S, Anderson MS, McManus MT, et al. Selective miRNA disruption in Treg cells leads to uncontrolled autoimmunity. *J Exp Med* 2008; 205: 1983-91.
- Jakymiw A, Ikeda K, Fritzler MJ, Reeves WH, Satoh M, Chan EK. Autoimmune targeting of key components of RNA interference. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R87.
- Pan PY, Ozao J, Zhou Z, Chen SH. Advancements in immune tolerance. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60: 91-105.
- Goodnow CC. Multistep pathogenesis of autoimmune disease. *Cell* 2007; 130: 25-35.
- Tracey KJ. Understanding immunity requires more than immunology. *Nat Immunol* 2010; 11: 561-4.
- Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell* 2010; 140: 918-34.
- Green AJ, McQuaid S, Hauser SL, Allen IV, Lyness R. Ocular pathology in multiple sclerosis: retinal atrophy and inflammation irrespective of disease duration. *Brain* 2010; 133: 1591-601.

31. Viglietta V, Khoury SJ. Modulating co-stimulation. *Neurotherapeutics* 2007; 4: 666-75.
32. Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti C. Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001; 7: 115-21.
33. Mor E, Cabilly Y, Goldshmit Y, Zalts H, Modai S, Edry L, et al. Species-specific microRNA roles elucidated following astrocyte activation. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 3710-23.
34. Zhang R, Tian A, Wang J, Shen X, Qi G, Tang Y. miR26a modulates Th17/Treg balance in the EAE model of multiple sclerosis by targeting IL6. *Neuromolecular Med* 2015; 17: 24-34.
35. Paraboschi EM, Soldà G, Gemmati D, Orioli E, Zeri G, Benedetti MD, et al. Genetic association and altered gene expression of miR-155 in multiple sclerosis patients. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 8695-712.
36. Junker A, Krumbholz M, Eisele S, Mohan H, Augstein F. MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47. *Brain* 2009; 132: 3342-52.
37. Murugaiyan G, Beynon V, Mittal A, Joller N, Weiner HL. Silencing MicroRNA-155 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2011; 187: 2213-21.
38. Siegel SR, Mackenzie J, Chaplin G, Jablonski NG, Griffiths L. Circulating microRNAs involved in multiple sclerosis. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 6219-25.
39. Lin L, Peng SL. Coordination of NF-kappaB and NFAT antagonism by the forkhead transcription factor Foxd1. *J Immunol* 2006; 176: 4793-803.
40. Massaro AR, De Pascalis D, Carnevale A, Carbone G. The neural cell adhesion molecule (NCAM) present in the cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients is unsialylated. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009; 13: 397-9.
41. Byun E, Caillier SJ, Montalban X, Villoslada P, Fernández O, Brassat D, et al. Genome-wide pharmacogenomic analysis of the response to interferon beta therapy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2008; 65: 337-44.
42. O'Neill LA. Boosting the brain's ability to block inflammation via microRNA-132. *Immunity* 2009; 31: 854-5.
43. Mueller M, Zhou J, Yang L, Gao Y, Wu F, Schoeberlein A, et al. Preimplantation factor promotes neuroprotection by targeting microRNA let-7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 13882-7.
44. Du C, Liu C, Kang J, Zhao G, Ye Z, Huang S, et al. MicroRNA miR-326 regulates Th-17 differentiation and is associated with the pathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Immunol* 2009; 10: 1252-9.
45. Jernäs M, Malmström C, Axelsson M, Nookaew I, Wadenvik H, Lycke J, et al. MicroRNA regulate immune pathways in T-cells in multiple sclerosis (MS). *BMC Immunol* 2013; 14: 32.
46. Zahednasab H, Balood M. The role of miR-326 and miR-26a in MS disease activity. *Gene* 2014; 548: 158.
47. Schaefer A, O'Carroll D, Tan CL, Hillman D, Sugimori M, Llinas R, et al. Cerebellar neurodegeneration in the absence of microRNAs. *J Exp Med* 2007; 204: 1553-8.
48. Kawase-Koga Y, Otaegi G, Sun T. Different timings of Dicer deletion affect neurogenesis and gliogenesis in the developing mouse central nervous system. *Dev Dyn* 2009; 238: 2800-12.
49. Carson MJ. Microglia as liaisons between the immune and central nervous systems: functional implications for multiple sclerosis. *Glia* 2002; 40: 218-31.
50. Raivich G, Banati R. Brain microglia and blood-derived macrophages: molecular profiles and functional roles in multiple sclerosis and animal models of autoimmune demyelinating disease. *Brain Res* 2004; 46: 261-81.
51. Olah M, Amor S, Brower N, Vinet J, Eggen, Biber K, et al. Identification of a microglia phenotype supportive of remyelination. *Glia* 2012; 60: 306-21.
52. Ponomarev ED, Veremeyko T, Barteneva N, Krichevsky AM, Weiner HL. MicroRNA-124 promotes microglia quiescence and suppresses EAE by deactivating macrophages via the C/EBP-[alpha]-PU.1 pathway. *Nat Med* 2011; 17: 64-70.
53. Kuhn DE, Nuovo GJ, Terry AV Jr, Martin MM, Malana GE. Chromosome 21-derived microRNAs provide an etiological basis for aberrant protein expression in human Down syndrome brains. *J Biol Chem* 2010; 285: 1529-43.
54. Dubois-Dalcq M, French-Constant C, Franklin RJM. Enhancing central nervous system remyelination in multiple sclerosis. *Neuron* 2005; 48: 9-12.
55. Wilkins A, Chandran S, Compston A. A role for oligodendrocyte derived IGF-1 in trophic support of cortical neurons. *Glia* 2001; 36: 48-57.
56. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filipi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011; 69: 292-302.
57. Suárez-Gómez M, Alejandre-Durán E, Ruiz-Rubio M. MicroARN en el trastorno bipolar: posibles aplicaciones diagnósticas y terapéuticas. *Rev Neurol* 2011; 53: 91-8.
58. Cogswell JP, Ward J, Taylor IA, Waters M, Shi Y, Cannon B, et al. Identification of miRNA changes in Alzheimer's disease brain and CSF yields putative biomarkers and insights into disease pathways. *J Alzheimers Dis* 2008; 14: 27-41.
59. Fernández O, Martín R, Rovira A, Llufríu S, Vidal-Jordana A, Fernández-Sánchez VE, et al. Biomarcadores en esclerosis múltiple: puesta al día 2014. *Rev Neurol* 2014; 58: 553-70.
60. Harris VK, Sadig SA. Biomarkers of therapeutic response in multiple sclerosis: current status. *Mol Diagn Ther* 2014; 18: 605-17.
61. Gilad S, Meiri E, Yogeve Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148.
62. Chen X, Gao C, Li H, Huang L, Sun Q, Dong Y, et al. Identification and characterization of microRNAs in raw milk during different periods of lactation, commercial fluid, and powdered milk products. *Cell Res* 2010; 20: 1128-37.
63. Vickers KC, Remaley AT. Lipid-based carriers of microRNAs and intercellular communication. *Curr Opin Lipidol* 2012; 23: 91-7.
64. 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: 5003-8.
65. Begley DJ, Brightman MW. Structural and functional aspects of the blood-brain barrier. *Prog Drug Res* 2003; 61: 39-78.
66. Tanzi RE, Moir RD, Wagner SL. Clearance of Alzheimer's Abeta-peptide: the many roads to perdition. *Neuron* 2004; 43: 605-8.
67. González-Alegre P. ARN de interferencia terapéutico para las enfermedades neurodegenerativas. *Rev Neurol* 2008; 47: 641-7.
68. Haghikia A, Hellwig K, Baraniskin A, Holzmann A, Decard BF, Thum T, et al. Regulated microRNAs in the CSF of patients with multiple sclerosis: a case-control study. *Neurology* 2012; 79: 2166-70.
69. Ridolfi E, Fenoglio C, Cantoni C, Calvi A, De Riz M, Pietroboni A, et al. Expression and genetic analysis of microRNAs involved in multiple sclerosis. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 4375-84.
70. Keller A, Leindinger P, Lange J, Borries A, Schroers H, Scheffler M, et al. Multiple sclerosis: microRNA expression profiles accurately differentiate patients with relapsing-remitting disease from healthy controls. *PLoS One* 2009; 4: e7440.
71. Honardoost MA, Kiani-Esfahani A, Ghaedi K, Etemadifar M, Salehi M. miR-326 and miR-26a, two potential markers for diagnosis of relapse and remission phases in patient with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Gene* 2014; 544: 128-33.
72. Waschbisch A, Atiya M, Linker RA, Potapov S, Schwab S, Derfuss T. Glatiramer acetate treatment normalizes deregulated microRNA expression in relapsing remitting multiple sclerosis. *PLoS One* 2011; 6: e24604.
73. Haghikia A, Haghikia A, Hellwig K, Baraniskin A, Holzmann A, Décard BF. Regulated microRNAs in the CSF of patients with multiple sclerosis: a case-control study. *Neurology* 2012; 79: 2166-70.
74. Millan MJ. MicroRNA in the regulation and expression of serotonergic transmission in the brain and other tissues. *Curr Opin Pharmacol* 2011; 11: 11-22.

75. Sievers C, Meira M, Hoffmann F, Fontoura P, Kappos L, Lindberg RL. Altered microRNA expression in B lymphocytes in multiple sclerosis: towards a better understanding of treatment effects. *Clin Immunol* 2012; 144: 70-9.
76. Zhang Y, Ueno Y, Liu XS, Buller B, Wang X, Chopp M, et al. The microRNA-17-92 cluster enhances axonal outgrowth in embryonic cortical neurons. *J Neurosci* 2013; 33: 6885-94.
77. De Felice B, Mondola P, Sasso A, Orefice G, Bresciamorra V, Vacca G, et al. Small non-coding RNA signature in multiple sclerosis patients after treatment with interferon- $\beta$ . *BMC Med Genomics* 2014; 7: 26.
78. Muñoz-Culla M, Irizar H, Castillo-Triviño T, Sáenz-Cuesta M, Sepúlveda L. Blood miRNA expression pattern is a possible risk marker for natalizumab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in multiple sclerosis patients. *Mult Scler* 2014; 20: 1851-9.

### MicroRNAs and their neuroimmunoregulator mechanisms in multiple sclerosis. Development of biomarkers for diagnosis

**Introduction.** MicroRNAs (miRNAs) are molecules that in the last decade have gained increased attention as a key mediator of the process of gene silencing in mammals. Deregulation of miRNAs is linked to illnesses such as cancer, and autoimmunity. Different reports claim for these molecules pivotal roles in both neuronal and immune processes, as well as in prediction of diseases affecting both systems. Multiple sclerosis (MS) is an example of an illness affecting myelin of axons, caused by autoimmune deregulation.

**Aim.** To show the close relationship of the functions of miRNAs and their deregulation processes related to the immune and brain mechanisms in MS. In addition, we illustrate the use of miRNAs as a potential noninvasive diagnostic for the assessment of the health status of a patient with MS.

**Development.** In the scientific literature, there has been a widely identified role of miRNAs as modulators. However, little is known about the role that these molecules perform together with glial cells in neuronal plasticity and de/re-myelination processes. In spite of the acknowledged role played by miRNAs in all function, little has been investigated on their potential. An overview is presented here in the research, development and implementation of diagnostic techniques relating miRNA and MS.

**Conclusions.** There is strong evidence of the role of miRNA and homeostatic processes of brain's white matter in MS. In a field study to exploit and can aid in early diagnosis and also in the development of therapies based on the use of miRNAs.

**Key words.** Biomarkers. Diagnosis. Genetic immunoregulation. Immune system. MicroRNA. Multiple sclerosis.