

MicroRNA's: Importancia en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y terapia de las leucemias. Revisión sistemática

MicroRNAs: Importance in the pathogenesis, diagnosis, prognosis and therapy of leukemias. Systematic review

Juliana Patricia Sánchez Álvarez¹, Paola Andrea Acevedo Toro², Jaiberth Antonio Cardona Arias³, Luz Marina Jaramillo Pérez⁴, Laura María Medina Gómez⁵

1 Microbióloga y Bioanalista MSc Microbiología. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Estudiante de Maestría en Microbiología y Bioanálisis- Énfasis Hematología

2 Microbióloga y Bioanalista .MSc Ciencias Básicas Biomédicas. Grupo de Investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Tutora trabajo de Investigación

3 MyB, MSc Epidemiología, MSc Economía Aplicada. Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Miembro Comité tutorial

4 Bacterióloga, especialista en Ciencias Básicas Biomédicas, Magister en Biología. Grupo de investigación Hematopatología Molecular. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Miembro Comité tutorial.

5 Bióloga, MSc Ciencias Básicas. Estudiante PhD Biotecnología. Miembro Comité tutorial.

Correspondencia.

Paola Andrea Acevedo Toro. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Calle 67 Número 53 – 108, Bloque 5, oficina 103, Medellín, Colombia. Teléfono 2198486. Fax 2195486. Correo electrónico paola.acevedo@udea.edu.co

Resumen

Introducción: Los microRNA son moléculas de ARN no codificantes pequeñas las cuales intervienen en procesos como crecimiento, proliferación, diferenciación y muerte celular; Aún no se dispone de estudios que permitan resumir y analizar la evidencia disponible sobre la vinculación de los microRNA en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y seguimiento de tratamiento.

Objetivo: Caracterizar los principales microRNA implicados en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y terapia según el tipo de leucemia.

Métodos: Revisión sistemática de la literatura en cinco bases de datos, con seis estrategias de búsqueda, garantizando exhaustividad y reproducibilidad en las fases de identificación, tamización, elección e inclusión de la guía PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*). Se realizó síntesis cualitativa de los resultados con distribuciones de frecuencias en SPSS 24.0®.

Resultados: Se incluyeron 322 investigaciones con 28.240 pacientes, en quienes se estudiaron 257 microRNAs siendo *miR155*, *miR223*, *miR15a*, *miR181a* y *miR16-1* los más frecuentes. Se identificaron 331 genes blanco, los más frecuentes fueron *BCL2*, *KIT*, *CDK6*, *ABL-BCR* y *TP53*. El mayor número de publicaciones fue de China con un 23% (n=74), Estados Unidos 14,3% (n=46), Italia 8,7% (n=28), Alemania 5,6% (n=18) y España 5,0% (n= 16); no se encontraron estudios en África, Centro y Suramérica, con excepción de Brasil y México. El principal tipo de leucemia fue la mieloide aguda con un 43,5% (n= 140), seguido de la linfocítica crónica con un 23,6% (n= 76).

El 56,7% (n=182) de los estudios vinculan microRNA a la patogénesis de la leucemia y el 21,7 (n=70) al pronóstico. Más del 90% usó Q-RT-PCR y/o microarreglos, sólo 20,2% (n= 65) usó muestras de médula ósea y sangre periférica y la principal propiedad estudiada en los microRNA en leucemias fue su expresión.

Conclusión: La elevada heterogeneidad de los microRNAs identificados, pone de manifiesto la necesidad de mejorar la investigación en este campo, previo a su incorporación en la práctica clínica; al tiempo que consolida hipótesis para optimizar los esfuerzos investigativos en este campo.

Palabras clave: Leucemias; MicroARNs; miARN; ARN temporal pequeño; stARN; revisión sistemática.

Abstract

Introduction: MicroRNAs are small non-coding RNA molecules that intervene in processes such as growth, proliferation, differentiation, and cell death; Studies to synthesize and analyze available evidence on the binding of microRNAs into pathogenesis, diagnosis, prognosis and treatment follow-up are not yet available.

Objective: To characterize the main microRNAs involved in pathogenesis, diagnosis, prognosis and therapy according to the type of leukemia.

Methods: Systematic review of the literature in five databases, with six search strategies, guaranteeing completeness and reproducibility in the identification, screening, selection and inclusion of the papers, according to phases of the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Qualitative synthesis of the results was performed with frequency distributions in SPSS 24.0®.

Results: We included 322 investigations with 28,240 patients, in whom 257 microRNAs were studied being miR155, miR223, miR15a, miR181a and miR16-1 the most frequent. We identified 331 target genes, the most frequent being BCL2, KIT, CDK6, ABL-BCR and TP53. The highest number of publications was from China with 23% (n = 74), United States 14.3% (n = 46), Italy 8.7% (n = 28), Germany 5.6%) And Spain 5.0% (n = 16); No studies were found in Africa, Central and South America, with the exception of Brazil and Mexico. The main type of leukemia was acute myeloid with 43.5% (n = 140), followed by chronic lymphoid with 23.6% (n = 76).

56.7% (n = 182) of the studies linked microRNA to the pathogenesis of leukemia and 21.7 (n = 70) to prognosis. More than 90% used Q-RT-PCR and / or microarray, only 20.2% (n = 65) used bone marrow and peripheral blood samples and the main property studied in microRNAs in leukemias was their expression.

Conclusion: The high heterogeneity of the identified microRNAs, as well as their varied uses in different types of leukemia, highlights the need to improve research in this field, prior to its incorporation into clinical practice; while consolidating hypotheses to optimize research efforts in this field.

Key words: Leukemias; MicroRNAs; MiRNA; Small temporal RNA; stRNA; systematic review.

Introducción

La leucemia es un desorden clonal de la médula ósea, caracterizada por la proliferación anormal de precursores sanguíneos de origen mieloide o linfoide (1). Según GLOBOCAN, entre todos los tipos de cáncer registrados en el ámbito mundial en el 2012, las leucemias ocuparon la décimo tercera posición, con una incidencia de 4,7 y mortalidad de 3,4 por cada 100.000 habitantes (2) y un total de 10,6 millones de Años de Vida Potencialmente Perdidos Ajustados por Discapacidad, lo que representan cerca de 0,5% de la carga mundial de enfermedad (3). En Colombia ocupó la novena posición entre todos los tipos de cáncer, con una incidencia de 5,8 y mortalidad de 4,1 por cada 100.000 habitantes (2).

Debido a la relevancia epidemiológica, de salud pública y clínica de las leucemias, la Organización Mundial de la Salud ha realizado múltiples esfuerzos para validar e implementar un sistema de clasificación que permita su correcto diagnóstico, como base para orientar un tratamiento precoz y mejorar el pronóstico y la calidad de vida de los pacientes; dicho sistema incluye aspectos morfológicos, citoquímica, inmunofenotipo, genética y clínica (4). Sin embargo, esta clasificación aún es imprecisa, pues no permite dirigir terapias adecuadas cuando los pacientes presentan características moleculares particulares; lo que ha derivado en la necesidad de realizar la detección de biomarcadores y descubrir nuevos blancos terapéuticos, que complementen los aspectos anteriormente mencionados, y se pueda lograr un diagnóstico, tratamiento y pronóstico más asertivos (5).

En este contexto, uno de los biomarcadores que están siendo estudiados en la actualidad son los microRNA (miRNAs), moléculas de ARN no codificantes pequeñas (aproximadamente 22 nucleótidos) que participan en la regulación genética y son capaces de alterar la expresión de sus genes blanco (6). Entre las características de los miRNAs que los han convertido en un blanco de gran interés para la investigación en áreas clínicas está su participación en la regulación de la traducción de alrededor del 60% de genes que codifican para proteínas humanas, son altamente conservados entre especies (7), intervienen en varios procesos celulares como crecimiento (8), proliferación (9), diferenciación (10) y muerte celular (11).

Dado lo novedoso de este marcador, vale precisar que sus genes son transcritos por ARN polimerasa II y III en el núcleo, para dar lugar a un miRNA primario (pri-

miRNA), el cual es posteriormente procesado por enzima Drosha para formar un pre-miRNA (70 nucleótidos), el cual es transportado a citoplasma por la exportina 5, donde es procesado por la enzima DICER, para formar miRNA duplex de 22 nucleótidos. Una de las cadenas del dúplex interactúa con el complejo inducido para el silenciamiento (RISC) para unirse al ARN Mensajero del cual es blanco, impidiendo la traducción de este (12).

Recientemente se ha evidenciado que los miRNAs participan en aspectos claves de la hematopoyesis, como la diferenciación de células madre/progenitoras hematopoyéticas y otros procesos que llevan a desórdenes hematológicos como la leucemia (13); en este orden de ideas, se han descrito alteraciones en la expresión de distintos miRNAs en este tipo de neoplasias. En el año 2002, se evidenció la primera asociación entre miRNA y cáncer por Callin y colaboradores, en un modelo de Leucemia Linfocítica Crónica B (LLC-B), estos investigadores encontraron que miR-15 y miR-16-1 están localizados en el cromosoma 13q14, una región que se encuentra comúnmente con deleciones en LLC-B y como consecuencia, estos miRNAs presentan una baja expresión, es decir, actúan como moléculas supresoras de tumores (14). Otros miRNAs como miR-155 se encuentran sobre-expresados y actúan como productos oncogénicos que confieren mal pronóstico en el caso de Leucemia Mieloide Aguda (15).

Esta dinámica de expresión en los miRNA, el aumento o disminución de su expresión, se reflejan en cambios fisiológicos a nivel celular (16), lo que ha permitido vincularlos con la patogénesis (17), la progresión (18), el pronóstico (19) e incluso la falla terapéutica en las leucemias (20). Además, desde los primeros reportes finalizando la década de los 90s, el número de miRNAs descubiertos en diferentes especies ha crecido exponencialmente; en el último reporte de miRBase (junio de 2014), se han registrado 28.645 entradas, las cuales representan precursores miRNA que al ser procesados dan origen a 35.828 miRNA maduros, en un total de 223 especies (21).

Pese al incremento de la producción científica sobre este tema, no se dispone de un estudio que haya sistematizado la evidencia disponible sobre la vinculación de los microRNA en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y seguimiento de tratamiento de las leucemias.

En este sentido, las publicaciones se encuentran atomizadas y los pocos estudios que han intentado resumir la evidencia disponible presentan limitaciones como el centrarse sólo en la familia de los miRNAs-29 argumentado su elección por ser uno de los primeros miRNAs identificados como posible agente terapéutico en malignidades

hematopoyéticas (16) o en la validez diagnóstica (centrado en la sensibilidad y especificidad) de algunos miRNAs evaluados en personas con leucemias frente a controles sanos (22).

Los antecedentes expuestos evidencian que la información relacionada con los aspectos mencionados de los miRNAs en leucemias se encuentra segmentada, los pocos estudios basados en revisión sistemática se focalizan en aspectos concretos como un único miRNA o la validez diagnóstica de otros y, en síntesis, no se ha desarrollado una revisión sistemática que permita disponer de un perfil de publicaciones sobre estudios que vinculen miRNA en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y tratamiento, que dé cuenta de variables de gran relevancia como la distribución geográfica, el tipo de leucemias más estudiadas, metodologías empleadas para la detección de miRNA, enfoques de diagnóstico, progresión y seguimiento de terapia de las leucemias, entre otras que resultan determinantes para garantizar mayor eficiencia en los esfuerzos investigativos y clínicos.

Es importante que tanto los investigadores, como el personal médico y clínico, puedan acceder a la evidencia disponible sobre los miRNAs en leucemias, para así, encontrar las necesidades de investigación en la temática y se puedan desarrollar estudios posteriores con metodologías y herramientas de mayor solidez; identificar los sitios en donde se debe fortalecer la investigación en estos biomarcadores; localizar los países que, al tener una alta prevalencia de leucemias podrían beneficiarse o invertir más recursos para la investigación en esta área, entre otros efectos positivos. Además, las revisiones sistemáticas tienen ventajas sobre otras modalidades de investigación como el identificar heterogeneidad en los resultados, combinar resultados de un mayor número de pacientes y lugares, aumentar la validez externa de los resultados y consolidar hipótesis (23).

Por lo anterior, nos planteamos la siguiente pregunta ¿Cuáles son los principales microRNA implicados en la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y terapia según el tipo de leucemia?

Métodos

Tipo de estudio: Revisión sistemática de la literatura científica.

Protocolo de identificación y selección de estudios según fases de la guía PRISMA

(Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses)(24).

Identificación: Se realizó una búsqueda por especificidad (basada en tesauros) y sensibilidad (con cosecha de perlas) de artículos de investigación originales en bases de datos multidisciplinarias y específicas del área de la salud: Ovid, Science Direct, Pubmed, Scielo y Virtual Health Library de Lilac. Para la selección de los términos de búsqueda se hizo una consulta en el tesoro DeCS (*Descriptores en Ciencias de la Salud*) y MeSH (*Medical Subject Headings*) y una cosecha de perlas para captar otros sinónimos de los miRNAs en publicaciones previas; de esta forma se establecieron seis estrategias de búsqueda combinando el término “Leucemia” con el booleano AND (&) “non-coding RNA”, “ncRNA”, “Small RNA”, “MicroRNA”, “miRNA” y “miR”, todas en español, inglés y portugués. Los artículos recuperados en la búsqueda fueron exportados al programa ZOTERO, en el cual se eliminaron duplicados.

Tamización: Se aplicaron los criterios de inclusión de contener los términos de búsqueda en título o resumen, ser un estudio original, cuya población fuesen personas con leucemia, cuyos objetivos se relacionan con el estudio de miRNA y ser un estudio con pacientes (no se incluyeron estudios preclínicos que procesaron muestras de pacientes para hacer modelos *in vitro* o *in vivo*). No se aplicó limitación temporal de manera retrospectiva, de manera prospectiva la búsqueda finalizó el 26 de febrero de 2016 y se revisaron las referencias de los artículos incluidos para mejorar la exhaustividad del protocolo.

Algunas sintaxis empleadas en la selección fueron: (leukemia[Title/Abstract]) AND non-coding RNA[Title/Abstract]; TITLE-ABSTR-KEY(leukemia) and TITLE-ABSTR-KEY(ncRNA); (ti:(ab:(leukemia microRNA))); leukemia smallRNA.mp. [mp=title, abstract].

Elección: Se excluyeron los estudios que no especificaron el tipo de leucemia o de miRNA, manuscritos con información incompleta como no especificar el número de pacientes o artículos que sólo aparecían con el título en las bases de datos y no estaban disponibles (a pesar de solicitar el texto a los autores).

Inclusión: Se incluyeron los estudios que cumplieron con el protocolo, con los cuales se realizó una base de datos en SPSS 24.0® con las variables título, autores, año, lugar, tipo de leucemia, tipo de miRNA, gen blanco, aspecto estudiado del miRNA (clasificado en patogénesis, pronóstico, diagnóstico o seguimiento terapéutico), método de determinación, tipo de muestra, propiedad evaluada (expresión, metilación o polimorfismo) y número de pacientes.

Evaluación de la calidad de los artículos: *A priori* se determinó que la evaluación de la calidad de los artículos se realizaría con base en las guías STROBE (*STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology*) para estudios transversales (descriptivos) y longitudinales (analíticos de cohorte o casos y controles), definiendo como satisfactorio el cumplimiento de al menos 20 de los 22 criterios que incluyen estas guías (25). Cabe aclarar que no se tomó el total de los 22 criterios, dado que en algunas revistas no se solicita información relacionada con la financiación del estudio y no se separan los criterios relacionados con la descripción de la población y de los participantes; además, *a posteriori* se observó que la totalidad de estudios cumplían con estos criterios de calidad.

Es oportuno precisar que las guías STROBE están diseñadas para mejorar parámetros editoriales y en algunos contextos no se consideran útiles para evaluar la calidad metodológica; sin embargo, en la actualidad no existen una guía de evaluación metodológica para estudios observacionales y STROBE en las secciones de métodos y discusión, incluye criterios que permiten evaluar la validez interna y externa de los estudios.

Evaluación de la reproducibilidad de la búsqueda y selección de estudios: Tanto la búsqueda, como la aplicación de criterios de inclusión y de exclusión fueron realizadas por dos investigadores de manera independiente, con el fin de asegurar la reproducibilidad de la búsqueda y la selección de la información, *a priori* se determinó que las discrepancias se resolverían por consenso o remisión a un tercero. En la extracción de las variables del estudio se hizo análisis de reproducibilidad con el diligenciamiento por duplicado e independiente de la base de datos, obteniendo un valor de 1,00 en el índice *kappa* (grado de acuerdo perfecto según la escala de Landis y Koch) en las variables del estudio.

Análisis de la información: Las variables del estudio se describieron con frecuencias absolutas y relativas, se describió el número total de pacientes incluidos y su distribución según lugar de estudio, tipo de leucemia, muestra y método de detección. Para los cinco miRNA más frecuentes se exploró su distribución según periodo y lugar de estudio, tipo de leucemia, aspecto estudiado, método de detección, muestra, gen blanco y número de pacientes.

Resultados

En la búsqueda inicial se identificaron 7.205 publicaciones que usan los términos de búsqueda en cualquier parte del texto, de éstos se tamizaron 1.991 con la lectura del resumen, posterior a la aplicación de los criterios de inclusión se realizó lectura completa con los cual se excluyeron 59 manuscritos por no hacer explícito el tipo de leucemia, de miRNA o no tener información completa (o acceso al texto completo) para la extracción de las variables de esta revisión (Figura 1).

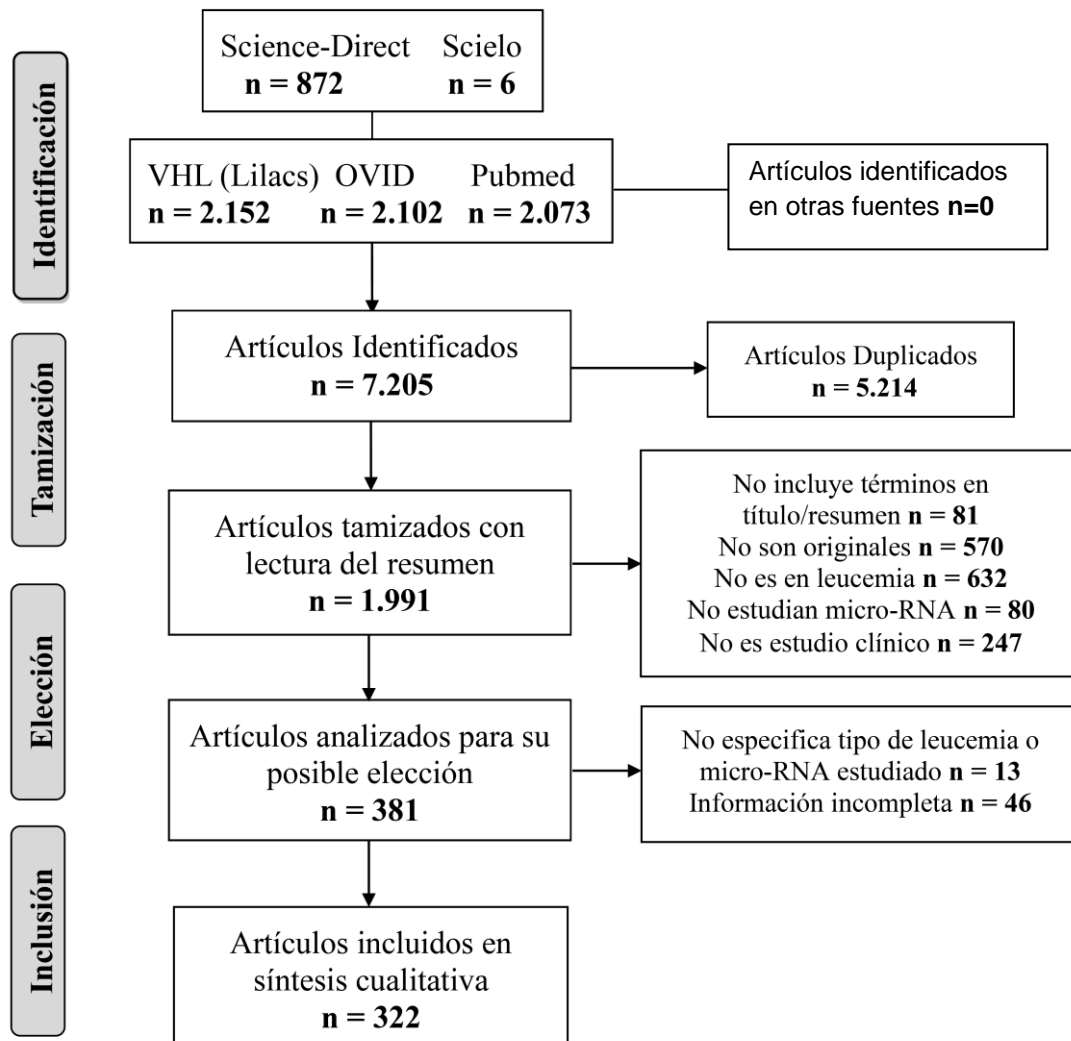


Figura 1. Flujograma de selección de los estudios.

En relación con los lugares de estudio los países con el mayor número de publicaciones fueron China con un 23% (n=74), Estados Unidos con el 14,3% (n=46), Italia 8,7% (n=28), Alemania 5,6% (n=18) y España 5,0% (n= 16); también vale destacar la ausencia de estudios en África, Centro y Suramérica, con excepción de Brasil y México, así como la totalidad de estudios de Oceanía que corresponde a un 1,6% (n=5) de Australia (Figura 2).

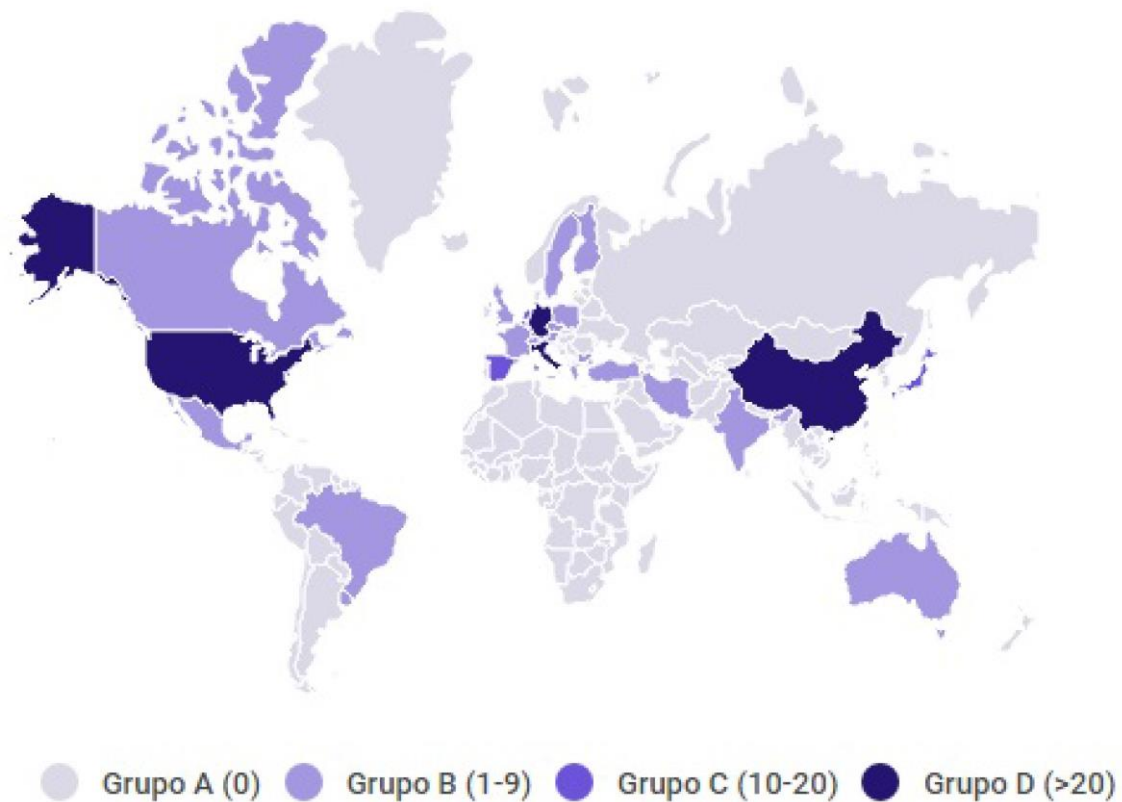


Figura 2. Distribución de la frecuencia de estudios según país de realización.

Según el continente, el 32,6% (n= 105) corresponde a Europa, 28,9% (n=93) Asia, 17,4% (n=56) América y 19,6% (n= 63) multicéntricos. Además, los estudios incluidos se desarrollaron entre 2002 y 2016; con base en trienios el 34,8% (n= 112) se desarrollaron entre 2014-2016, 38,2% (n= 123) en el periodo 2011-2013, 23,0% (n= 74) entre 2008-2010 y el 4,0% (n= 13) durante 2002-2007 de los cuales 8 son del 2007 y los demás años sólo registraron una o dos publicaciones.

El principal tipo de leucemia estudiado corresponde a la mieloide aguda con un 43,5% (n= 140) de los estudios, seguido de la linfoide crónica con un 23,6% (n= 76); los principales usos de la medición de miRNA en leucemias ha sido el estudio de la patogénesis con el 56,7% (n= 182) y el pronóstico con el 21,7% (n= 70); más del 90% usó Q-RT-PCR y/o microarreglos; sólo el 20,2% (n= 65) usó muestras de médula ósea y sangre periférica y la principal propiedad estudiada en los miRNA en leucemias es su expresión con un 92,2% (n= 297); 3,1% (n= 10) de los estudios evaluaron simultáneamente expresión y metilación, y un 0,6% (n= 2) expresión y polimorfismo (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de los estudios incluidos

		N	%
Tipo de leucemia	Mieloide aguda	140	43,5
	Linfoide aguda	55	17,1
	Linfoide crónica	76	23,6
	Mieloide crónica	25	7,8
	Varias	26	8,1
Aspecto estudiado	Patogénesis	182	56,7
	Pronóstico	70	21,7
	Diagnóstico	28	8,7
	Seguimiento del tratamiento	41	12,7
	Datos perdidos	1	0,31
Método – Detección	Q-RT-PCR	183	56,5
	Microarreglo	35	10,9
	Microarreglo y Q-RT-PCR	66	20,5
	MS-PCR, Secuenciación Bisulfito	9	2,8
	SNP	8	2,5
	Otras	18	5,6
	Datos perdidos	3	0,9
Muestra	Medula ósea	126	39,1
	Sangre periférica	109	33,9
	Medula ósea y Sangre periférica	65	20,2
	Datos perdidos	22	6,8
Propiedad	Expresión	297	92,2
	Metilación	23	7,1
	Polimorfismos	12	3,7
	Datos perdidos	1	0,31

Nota: Sólo en el tipo de leucemia se halló registro en la totalidad de artículos, en las demás se registran algunos datos perdidos.

En los 322 estudios se identificaron 257 miRNAs diferentes en el estudio de leucemias; en la tabla 2 se expone la frecuencia de estudios con los 20 más prevalentes, destacándose *miR-155* usado en un 10,2% (n= 33) de los estudios, *miR-223* en el 8,4% (n= 27), *miR-15a* con el 8,1% (n= 26), *miR-181a* en el 7,1% (n= 23) y *miR-16-1* con el 6,5% (n= 21), los demás presentaron frecuencias menores a 20 estudios. Por su parte, en el 23,4% (n= 72) de los estudios no se hace explícito el gen blanco, en el porcentaje restante se identificaron 331 genes blanco diferentes, siendo más frecuentes *BCL2*, *KIT*, *CDK6*, *BCR-ABL* y *TP53* (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de frecuencias de los principales microRNAs y genes blanco identificados.

	N	%	
Principales microRNAs identificados	miR-155	33	10,2
	miR-223	27	8,4
	miR-15a	26	8,1
	miR-181a	23	7,1
	miR-16-1	21	6,5
	miR-34a	18	5,6
	miR-29b	16	5,0
	miR-150	15	4,7
	Family let-7	16	5,0
	miR-29a	15	4,7
	miR-181b	17	5,3
	miR-20a	15	4,7
	miR-29c	12	3,7
	miR-221	12	3,7
	miR-100	11	3,4
	miR-126	11	3,4
	miR-196b	11	3,4
	miR-146a	11	3,4
	miR-222	12	3,7
	miR-26a	9	2,8
Principales genes blanco identificados	No lo indica	72	23.4
	BCL2	27	8,4
	KIT	12	3,7
	CDK6	10	3,1
	BCR-ABL	9	2,8
	TP53	8	2,5

Los demás miRNAs identificados presentaron las siguientes frecuencias:

- Cuatro miRNAs presentaron una frecuencia de ocho estudios: *miR125b*, *miR-99a*, *miR-148a*, *miR-19a*.
- *miR-15b* fue incluido en siete estudios.
- Cada uno de los siguientes siete miRNAs se empleó en seis estudios: *miR-132*, *miR-92*, *miR-128a*, *miR-34b*, *miR-34c*, *miR-195*, *mir-424*.
- Los siguientes 8 tipos fueron documentados en cinco estudios (cada uno): *miR-16*, *miR-10a*, *miR-21*, *miR-23a*, *miR-145*, *miR-326*, *miR-193a*, *miR-45*.
- Cada uno de los siguientes 10 tipos de miRNAs presentaron una frecuencia de cuatro estudios: *miR-15*, *miR-30a*, *miR-191*, *miR-9-2*, *miR-203*, *miR-368*, *miR-19b*, *miR-17*, *miR-370*, *miR-27a*.
- 23 tipos diferentes, *miR-212*, *miR-92a*, *miR-101*, *miR-30c*, *miR-128*, *miR-196a*, *miR-9-3*, *miR-129-2*, *miR-103*, *miR-146-5p*, *miR-146*, *miR-181c*, *miR-127*, *miR-*

135a, miR-154, miR-143, miR-22, miR-342, miR-107, miR-199b, miR-708, miR-24, miR-31, presentaron una frecuencia de tres, cada uno.

- 46 tipos diferentes, *miR-125a-5p, miR-663b, miR-26b, miR-532-3p, miR-20b, miR-10b, miR-10a-5p, miR-124-2, miR-124-1, miR-128b, miR-196a2, miR-96, miR-130, miR-130b, miR-130a, miR-199a, miR-224, miR-422b, miR-9-1, miR-9, miR-25, miR-106b, miR-328, miR-181, mir-181d, miR-1, miR-432, miR-379, miR-382, miR-337, miR-204, miR-449a, miR-449b, miR-17-5p, miR-136, miR-218, miR-409-3p, miR-138, miR-142-3p, miR-144, miR-199b-5p, miR-1206, miR-3151, miR-335 y miR-125b-2*, presentaron una frecuencia de dos, cada uno.
- Los siguientes 138 miRNAs presentaron una frecuencia de un estudio: *miR-125a, mir-532, miR-532-5p, miR-92-2, miR92-1, miR-101-2, miR-21-5p, miR-23a-3p, miR-23b-3p, miR-23b, miR-30d, miR-30b, miR-30e, miR-30d-5p, miR-124a, miR-26b-5p, miR-324-5p, miR-511, miR-199a-3p, miR-7, miR-7-1, miR-134, miR-141, miR-183, miR-520a, miR-9-5p, miR-124-3, miR-129-5p, miR-375, miR-922, miR-320b-1, miR-320d, miR-4747, miR-1976, miR-200c, miR-374b, miR-28-5p, miR-425, miR-425-5p, miR-565, miR-106a, miR-106, miR-188-5p, miR-2, miR-193b, miR-376b, miR-369-3p, miR-329, miR-493, miR-453, miR-656, miR-433, miR-494, miR-410, miR-376a, miR-412, miR-544, miR-133, miR-133-b, miR-93-5p, miR-449b-5p, miR-135b, miR-135a-1, miR-485, miR-299, miR-323, miR-218-2, miR-331, miR-122, miR-142-5p, miR-151, miR-151-3p, miR-151-5p, miR-629, miR-149, miR-342-3p, miR-233, miR-19b-2, miR-568, miR-640, miR-1290, miR-152, miR-200a1, miR-200b, miR-200, miR-429, miR-503, miR-18, miR-18a-3p, miR-18a, miR-19, miR-510-5p, miR-644, miR-197, miR-301, miR-365-5p, miR-365-3p, miR-21-3p, miR-27b, miR-339, miR-373, miR-211, miR-220, miR-595, miR-24-2, miR-2909, miR-300, miR-453, miR-2053, miR-423, miR-1307, miR-618, miR-577, miR-604, miR-492, miR-564, miR-3151, novel-sol-miR-11, novel-sol-miR-23, miR-3676, miR-377, miR-486, miR-495, miR-497, miR-612, miR-499, miR-650, miR-7-1, miR-102, miR-186, miR-217, miR-802, miR-551b, miR-125b-1, miR-181b-5p, miR-181b-1, miR-126-5p, miR-155-5p.*

En relación con los genes blanco identificados, se hallaron las siguientes frecuencias:

- Siete: *MEIS1, MLL FUSIONES.*
- Seis: *SIRT, DNMT3B, PTEN, CCND1 y MYB.*

- Cinco: *TCL1*, *DNMT3A*, *DNMT1* y *HOXA9*.
- Cuatro: *KLF4*, *p27*, *AKT2* y *CREB*.
- Tres: *BCL11a*, *NOTCH1*, *SP1*, *JUN*, *PU-1*, *BAALC*, *TLR4*, *MCL1*, *KRAS*, *BIM*, *TCL-1*, *MYCN*, *SOX4* y *RUNX-1*.
- Dos: *LMO2*, *BCL-xL*, *HOXA10*, *PLK2*, *PCTP*, *SHIP1*, *IRAK1*, *IRF8*, *CXXC6*, *ZAP70*, *MAFB*, *TGFbR2*, *WNT3A*, *EZH2*, *PDCD4*, *PUMA*, *BMI-1*, *JARID2*, *BCL11B*, *PBX3*, *HOXA11*, *BTG1*, *cyclin D1*, *cyclin E1*, *DICER1*, *AF4*, *HMGBl*, *ZNF238*, *SMAD4*, *TGFBR2*, *PIK3R1*, *CDKN1B*, *JAK2*, *CXXC6*, *TRIB2*, *E2F3*, *CCND2*, *RBSP3*, *AKT*, *CTD5PL*, *ZEB2*, *HOXC8* y *JUN B*.
- Uno: *USF2*, *NET1*, *ERK5*, *BAK1*, *Smo*, *XPO1*, *ZMYM3*, *POT1*, *APT-1*, *NP1*, *E2F5*, *ZBTB4*, *TRIM8*, *RB1CC1*, *RARS*, *WTAP*, *CEPB-BETA*, *NPM-1*, *ETS1*, *ERG*, *CCL17*, *DDR1*, *PIK3CD*, *CD40*, *RET*, *TRAF6*, *TLR8*, *IL6R*, *hnRNP E2*, *FBXL20*, *USP40*, *YY1*, *NFAT5*, *PODXL*, *p57*, *TPM1*, *SERPINB3*, *DNMT3b1*, *NR1I2*, *BMF*, *BCL-W*, *NOXA1*, *CIAP-1*, *BAX*, *BID*, *BIK*, *CIAP-2*, *FASL*, *C-FLIP*, *CD80*, *MAPKBP1*, *UTK-ZAP70*, *MYBL2*, *HOXB4*, *NFI-A*, *Ras*, *BACH1*, *VHL*, *kip1*, *IRF7*, *EGFL7*, *Crk*, *SLCA5*, *PRDX3*, *FLT3*, *FOSB*, *SNORD50A*, *SNORD105*, *SNORD11B*, *GRM3*, *BCL6*, *HOXA1*, *BCLAF1*, *LIFR*, *BCL2L1*, *AKTIP*, *FBXO33*, *KPNA4*, *DLEU-2*, *ST18*, *MTPN*, *NBN*, *AKT1*, *IRS1*, *NTRK3*, *ATG2B*, *DOCK4*, *Mylip*, *Rbp1-like*, *Hipk3*, *klf12*, *Mecp2*, *FBW7*, *PI-3K*, *CNTFR*, *NNAT*, *GNG12*, *FKB51*, *FAS*, *HOXA7*, *SPRED1*, *APP*, *RASSF2*, *SH3BP5*, *FoxM1*, *CDK2*, *CD34*, *P23*, *ZNF267*, *PKA*, *IDH1*, *E2F2*, *RAF1*, *PIK3R3*, *TAL1*, *HMOX1*, *phf6*, *Ikzf1*, *Fbxw*, *Fbxw7*, *CASP8AP2*, *FGFRL1*, *MNT*, *STAT1*, *IGF1-PDGFR*, *L11*, *PPIF*, *DNM1L*, *GAB*, *FOXP1*, *CDK1*, *ING4*, *EBF3*, *GM-CSF*, *HMGA*, *CDC25A*, *Cyclin D2*, *NR1I2*, *TLR3*, *PXDN*, *FAF-1*, *CASPASE 9*, *APAF-1*, *MDM4*, *PLAG1*, *GF1*, *FOS*, *CTNNB1*, *MAPK8*, *TNEM50B*, *EP400*, *ZBTB5*, *HOXB8*, *HOXA7*, *E2F1*, *EPOR*, *NFIA*, *MEF2C*, *RRAS2*, *MYD88*, *RRAS*, *MAP2K6*, *FGFR1*, *DPH1/OVCA*, *E2F*, *PCD4*, *SET8*, *IRF2*, *MN1*, *SPI1*, *CEBPB*, *CICLINA E2*, *E2F7*, *ABCC5*, *ABCA1*, *ABCB6*, *RAB11A*, *HBP1*, *14-3-3θ*, *SIT1*, *RLBP1*, *PAX2*, *CPLX2*, *MBNL1*, *ARL*, *NDRG4*, *MAGED1*, *SLC16A2*, *IMPAD1*, *HDAC1*, *CXCR4*, *HOXA3*, *PRKCD*, *CAMKK1*, *PEI*, *CDK4*, *BLID*, *ARID4A*, *EPC1*, *KDM3A*, *MLL5*, *MTSS1*, *PAN2*, *POU2F1*, *RBBP6*, *ST3GAL5*, *UBR5*, *UHRF2*, *ZFP36L2*, *Ski*, *IKAROS*, *LIPA*, *GSS*, *ACSS1*, *HK2*, *SCD1*, *PDK1*, *IK2FI*, *SATB1*, *CHD6*, *CICLINA E*, *TM6SF1*, *DNAJB11*, *NFKB1*, *MAAD*, *PIK3R2*, *FOXO*, *PD-L1*, *JUN D*, *DLGAP1*, *HMBOX1*, *KLF7*, *STRBP*, *CD79B*, *IG5F1*, *ZEB2*, *ASXL1*, *AF1Q*, *CCND3*, *NIK*, *MAPK1*, *SOCS1*, *DRAM2*, *CDK2*, *CYLD*, *BANDA 3*, *Integrinaβ8*, *GALNT1*, *VCP/97*, *TIMP3*, *GRK2*, *XIAP*, *AC9*

Tabla 3. Distribución porcentual de los miRNAs más frecuentes según tiempo y lugar de estudio.

		<i>miR-155</i>	<i>miR-223</i>	<i>miR-15a</i>	<i>miR-181a</i>	<i>miR-16-1</i>
Periodo	2000-2007	3,0	14,8	15,4	4,3	14,3
	2008-2010	15,2	25,9	30,8	26,1	28,6
	2011-2013	33,3	40,7	34,6	39,1	23,8
	2014-2016	48,5	18,5	19,2	30,4	33,3
País	China	21,2	3,7	7,7	30,4	9,5
	Estados Unidos	15,2	22,2	11,5	8,7	9,5
	Italia	6,1	11,1	11,5	4,3	4,8
	Alemania	3,0	0,0	11,5	8,7	9,5
	España	3,0	3,7	7,7	0,0	0,0
	Multicéntrico	24,2	29,6	38,5	17,4	47,6
	Otros	27,3	29,6	11,5	30,4	19,0
Continente	Asia	30,3	3,7	7,7	30,4	14,3
	Europa	24,2	37,0	46,2	34,8	28,6
	América	18,2	29,6	11,5	13,0	9,5
	Australia	3,0	3,7	3,8	4,3	4,8

Nota: En la distribución según continente no se obtiene el 100% debido a varios estudios multicéntricos que no especifican todos los países participantes.

Entre los cinco miRNA más estudiados, el *miR-155* presentó mayor frecuencia de estudios en el último trienio y en China, *miR-223* en el periodo 2011-2013 y en Estados Unidos y *miR-15a* presentó la mayor frecuencia en Europa (Tabla 3).

En leucemia mieloide aguda las mayores frecuencias de los miRNAs se observaron en *miR-155* (45,5% del total de estudio que usaron este RNA) y *miR-181a* (47,8%); en la linfoide aguda *miR-223* (33,3%), en leucemia linfoide crónica *miR-15a* (76,9%) y en leucemia mieloide crónica se hallaron frecuencias bajas siendo mayor la de *miR-155* (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución porcentual de los cinco miRNAs más frecuentes según características clínicas.

		<i>miR-155</i>	<i>miR-223</i>	<i>miR-15a</i>	<i>miR-181a</i>	<i>miR-16-1</i>
Tipo de leucemia	Mieloide aguda	45,5	33,3	19,2	47,8	14,3
	Linfoide aguda	9,1	33,3	0,0	8,7	0,0
	Linfoide crónica	30,3	25,9	76,9	26,1	71,4
	Mieloide crónica	12,1	0,0	0,0	8,7	4,8
	Varias	3,0	7,4	3,8	8,7	9,5
Aspecto estudiado	Patogénesis	42,4	59,3	76,9	43,5	71,4
	Pronóstico	39,4	18,5	11,5	21,7	19,0
	Diagnóstico	15,2	18,5	7,7	21,7	4,8
	Seguimiento del tratamiento	3,0	3,7	3,8	13,0	4,8
Método – Detección	Q-RT-PCR	57,6	51,9	76,0	30,4	70,0
	Microarreglo	21,2	11,1	4,0	17,4	0,0

	Microarreglo y Q-RT-PCR	18,2	22,2	4,0	43,5	1,0
	SNP	0,0	3,7	4,0	4,3	10,0
	Otras	3,0	11,1	12,0	4,3	10,0
Muestra	Medula ósea	38,7	41,7	12,0	33,3	10,0
	Sangre periférica	41,9	37,5	72,0	38,1	75,0
	Ambas	19,4	20,8	16,0	28,6	15,0
Propiedad	Expresión	100,0	92,3	92,3	95,5	90,5
	Metilación	0,0	3,8	0,0	0,0	0,0
	Polimorfismos	0,0	3,8	7,6	4,5	9,5

En los aspectos estudiados de los miRNAs, destaca que el *miR-15a* registró la frecuencia más alta en patogénesis con 76,9%, en pronóstico la más alta fue *miR-155* con 39,4% mientras que en diagnóstico y seguimiento de terapias las frecuencias oscilaron entre 3,0% y 21,7%. La frecuencia de estudios que aplicaron Microarreglo y Q-RT-PCR fue muy baja con excepción de los estudios en *miR-181a* que usaron ambas técnicas en el 43,5% de los estudios, en *miR-223* fue 22,2%, en *miR-155* 18,2% y en los demás fue menor al 5%. En el tipo de muestra se halló una distribución de frecuencias similar para medula ósea y sangre periférica, con excepción de *miR-15a* y *miR-16-1* que usaron sangre periférica en el 72% y 75%, respectivamente (Tabla 4).

Al desagregar los estudios que analizaron *miR-155* según el tipo de leucemia y la propiedad evaluada, se halló que en el 100% de las investigaciones en leucemia mieloide aguda, linfocítica aguda y mieloide crónica sólo se estudió la expresión de este miRNA, mientras que en leucemia linfocítica crónica esta propiedad fue analizada en el 90% de los casos. Para los estudios con *miR-223*, la situación es similar ya que la expresión fue la propiedad estudiada en el 87% de las investigaciones en leucemia mieloide aguda, 100% en leucemia linfocítica aguda y 87,5% en leucemia linfocítica crónica; propiedades como la metilación en este miRNA en leucemia mieloide aguda se evaluaron en un 12,5% y en leucemia linfocítica crónica se realizó simultáneamente análisis de polimorfismos y expresión en un 12,3% de los casos. En *miR-15a*, *miR-181* y *miR-16-1*, la distribución porcentual según tipo de leucemia y propiedad evaluada resultó similar, con menos del 10% de los estudios evaluando polimorfismos o metilación, y más del 90% se focalizan en la medición de la expresión del miRNA.

Al realizar el análisis de los miRNA más frecuentes según tipo de leucemia y aspecto evaluado, se encontró que, para *miR-155* en leucemia mieloide aguda un 46,7% investigó su vinculación en pronóstico y 46,7% en patogénesis; en leucemia linfocítica crónica el 60% de los estudios se focalizan en patogénesis; en leucemia linfocítica aguda

el 66,7% evaluó su aplicación en el diagnóstico de la enfermedad mientras que en leucemia mieloide crónica, la patogénesis, diagnóstico, pronóstico y seguimiento de tratamiento, se han estudiado en 25% de las publicaciones cada una. *miR-223* se ha vinculado principalmente con la patogénesis y el pronóstico de la leucemia mieloide aguda con un 56,6% y 33,3% de las publicaciones; en la patogénesis (66,7%) y el diagnóstico (22,2%) de leucemia linfocítica aguda, mientras que en leucemia linfocítica crónica se ha vinculado principalmente con la patogénesis (57,1%) y el pronóstico (28,6%).

Por otro lado, *miR-15a*, se ha vinculado principalmente con la patogénesis de la leucemia mieloide aguda, en un 60% y en seguimiento de tratamiento con un 20%; en leucemia linfocítica crónica la mayoría de estudios evalúan patogénesis (80%) y pronóstico (15%). *miR-16-1* se estudió principalmente en leucemia linfocítica crónica, su patogénesis (73,3%) y pronóstico (26,7%). *miR-181-a* tuvo mayor frecuencia de estudios en leucemia mieloide aguda, se ha vinculado con la patogénesis, diagnóstico y pronóstico de la enfermedad, en un 36,4%; 36,4% y 27,3%, respectivamente.

En la revisión sistemática se incluyeron 28.240 pacientes, siendo más alta la proporción de pacientes de China y Estados Unidos, con leucemia mieloide aguda y con muestras de sangre periférica (Tabla 5).

Tabla 6. Descripción de la frecuencia de pacientes incluidos según lugar de estudio y características clínicas.

		N	%
País	China	5.870	20,8
	Estados Unidos	5.683	20,1
	Italia	2.541	9,0
	Alemania	1.038	3,7
	España	2.373	8,4
	Multicéntrico	6.633	23,5
Tipo de leucemia	Mieloide aguda	13.235	46,9
	Linfoide aguda	3.715	13,2
	Linfoide crónica	7.831	27,7
	Mieloide crónica	801	2,8
Método - Detección	Q-RT-PCR	12.387	43,9
	Microarreglo	4.797	17,0
	Microarreglo y Q-RT-PCR	5.745	20,3
	SNP	2.834	10,0
	Otras	2.263	8,0
Muestra	Medula ósea	8.594	30,4
	Sangre periférica	9.682	34,3

	Ambas	8.012	28,4
microRNA	miR_155	2.878	10,2
	miR_223	1.996	7,1
	miR_15a	2.143	7,6
	miR_181a	1.883	6,7
	miR_16_1	2.485	8,8
	Gen blanco	BCL2	2.413
KIT		872	3,1
CDK6		990	3,5
BCR-ABL		222	0,8
TP53		1.162	4,1

Discusión

En esta revisión se incluyeron 322 investigaciones con 28.240 pacientes, se identificaron 257 miRNAs, 331 genes, un mayor número de publicaciones de China y Estados Unidos, casi nula la investigación en África, Centro y Suramérica. Las principales leucemias fueron la mieloide aguda y la linfoide crónica, en las cuales se estudió principalmente la expresión de los miRNA y su importancia en el estudio de la patogénesis y pronóstico de la enfermedad. Esta síntesis, evidencia la multiplicidad de aplicaciones de los miRNAs en el estudio de las leucemias, la heterogeneidad metodológica y clínica de los estudios disponibles en la literatura científica, los retos de elegir alguna tipología de leucemia o miRNAs para orientar investigaciones y acciones médicas, y la pertinencia de las revisiones sistemáticas para consolidar hipótesis e identificar las principales líneas de trabajo en este tema.

Esta investigación incluyó 322 estudios a partir de la aplicación de un protocolo de investigación sistemático, exhaustivo y reproducible; a pesar de no aplicar restricciones temporales, el estudio más antiguo fue del 2002, lo que indica que la investigación de miRNAs en leucemia es muy reciente y con un crecimiento importante en los últimos 6 años. Esto coincide con el registro de miRNAs en la base de datos miRBase, la cual para el año 2002 registró 218 entradas, mientras que en el año 2011 se ingresaron 18.226 (21).

Dada la gran cantidad de aplicaciones que tienen los miRNA en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de terapia de leucemias, el número de publicaciones realizadas en muestras de pacientes y su elevada heterogeneidad, permiten aseverar que su estudio aún es incipiente en esta enfermedad, por lo que sus mecanismos moleculares no están

completamente dilucidados y esto justifica incrementar los esfuerzos investigativos en este campo del conocimiento.

En cuanto la distribución geográfica, el mayor número de publicaciones se presentaron en China, seguido de Estados Unidos, Italia, Alemania y España; esto coincide con el perfil de morbilidad de la leucemia, dado que en Estados Unidos y los países de Europa mencionados, según el GLOBOCAN 2012, existe una alta prevalencia en leucemia con más de 19,5 casos por 100.000 habitantes (2). En China se presenta una moderada prevalencia en esta enfermedad con 6,6 casos por 100.000 habitantes; la intensificación de la investigación en este país podría estar justificada, además de su epidemiología, a su gran crecimiento en inversión y producción científica a nivel mundial, como se evidencia en los indicadores de ciencia e ingeniería de Estados Unidos (26).

Los países latinoamericanos, a pesar de presentar una moderada prevalencia de leucemias, siendo Uruguay, Ecuador y Colombia los países con mayor ocurrencia en la región, con 10,2; 8,5 y 7,8 casos por 100.000 habitantes, respectivamente (2), tuvieron una ausencia de publicaciones en este tema, dado que en la región sólo se identificaron publicaciones en Brasil y México. Esto puede deberse a un factor económico, en la destinación del producto interno bruto para la investigación científica que alcanza hasta el 1% en América Latina, los países que más invierten en la región son Brasil y México, con un 54% y 26% de la inversión latinoamericana, respectivamente (27).

El principal tipo de leucemia estudiado corresponde a la mieloides aguda con un 43,5% de las publicaciones; esto resulta congruente con la heterogeneidad citogenética y molecular en los subtipos de esta neoplasia, en tanto la diversidad de perfiles de miRNAs que podría hallarse en cada uno de ellos y sus potenciales usos en diagnóstico diferencial, pronóstico y orientación terapéutica, podrían redundar en un espectro más amplio de posibilidades investigativas.

Por otra parte, en esta revisión se identificaron 257 miRNAs diferentes en el estudio de leucemias y la principal propiedad estudiada fue la expresión, y en menor proporción la metilación y el análisis de polimorfismos. En este sentido, la investigación se ha enfocado en mayor medida, en encontrar perfiles de expresión de miRNAs, que permitan no sólo diferenciar un determinado tipo de leucemia, sino que puedan predecir la evolución del paciente. En adición al estudio de la expresión, recientemente ha emergido la importancia de indagar sobre los mecanismos de regulación que alteran la expresión de los miRNAs, en particular la hipermetilación de los genes que codifican para estos, dado que este mecanismo lleva a la inactivación de miRNAs supresores de

tumores. Por ejemplo, Wong y colaboradores, encontraron que *miR129-2* es un gen supresor de tumor frecuentemente metilado en leucemias linfoides pero no en las mieloides, y además de esto fue vinculado con una supervivencia inferior en leucemia mieloide crónica (28). Además de lo expuesto, también se ha demostrado, que polimorfismos en los sitios de unión de los miRNAs a sus genes blanco podrían estar alterando la fuerza de la interacción de los transcriptos diana y por consiguiente alterar el nivel de proteínas vinculadas con los procesos leucémicos (29).

Los miRNAs más estudiados fueron *miR-155* usado en un 10,2% de los estudios, *miR-223* en el 8,4%, *miR-15a* con el 8,1%, *miR-181a* en el 7,1% y *miR-16-1* con el 6,5%. *miR-155* es una molécula multifuncional, algunos estudios indican que ésta presenta diversos perfiles de expresión y participa en procesos fisiológicos y patológicos como la diferenciación del linaje hematopoyético, inmunidad, inflamación, cáncer y enfermedades cardiovasculares (30); además, se ha documentado que múltiples blancos genéticos implicados en desarrollo hematopoyético y desarrollo de leucemia pueden ser reprimidos de forma directa por *miR-155*(36). *miR-15a* y *miR-16-1*, se incluyen entre los primeros miRNA estudiados, han sido ampliamente vinculados desde su primer reporte con la patogénesis y pronóstico de la leucemia linfocítica crónica B, ya que se encuentra con baja expresión en aproximadamente el 68% de los casos (14).

La expresión de miRNAs se estudió con mayor frecuencia en la patogénesis de las leucemias, lo que resulta congruente con el desarrollo de la investigación en este campo; ya que la epigenética y particularmente la expresión de ARN no codificantes (incluyendo los microRNAs) constituye un área de investigación reciente, donde se debe realizar la identificación de las moléculas implicadas en procesos de diferenciación/proliferación, posteriormente investigar su aplicación diagnóstica, pronóstica y de seguimiento de tratamiento en las leucemias. Por ejemplo, en Leucemia Mieloide Aguda, el miRNA más estudiado, *miR155*, se ha vinculado con la patogénesis de esta neoplasia, al encontrar que unos de sus genes blanco es un supresor de tumores (*SHIP1*) cuya expresión se encuentra disminuida en casos de sobreexpresión de *miR-155* en pacientes y líneas celulares de esta leucemia; de esta forma, se concluyen que *miR-155* actúa como un oncomiR en la vía *miR-155/SHIP1/PI3K/AKT* y podría cumplir un papel importante en la patogénesis de la leucemia mieloide aguda (31). Otro de los miRNAs más estudiados, *miR-223*, se ha descubierto que es crítico en el proceso de granulopoyesis, ya que ha mostrado ser regulado por factores de transcripción como

C/EBPs y PU.1, y también se encuentra con baja expresión en leucemia mieloide aguda (32).

En coherencia con lo anterior vale precisar algunos avances en las aplicaciones de los miRNAs en pronóstico, en este caso, se ha documentado que la expresión de *miR-155* presenta una correlación positiva con altos conteos de leucocitos, aumento de lactato deshidrogenasa y proteína C reactiva en leucemia mieloide aguda; además de una asociación negativa con supervivencia global en esta patología (33).

Se evidenciaron pocos estudios en los que los miRNA tuvieran aplicación en el diagnóstico y seguimiento de tratamiento, lo que podría atribuirse al hecho que su dinámica molecular no está completamente entendida; en este orden de ideas, se dispone de pocos estudios pre-clínicos y de investigación básica que indagan sus aplicaciones en seguimiento e identificación de potenciales blancos terapéuticos para cada miRNA.

Se identificaron 331 genes blancos, lo cual se ha favorecido por el uso de la informática como herramienta para su predicción; por ejemplo el aumento de la expresión de *miR-155* en leucemia mieloide aguda se ha relacionado con algunos genes que intervienen en la diferenciación mieloide como *SPI1 (PU)* (34,35), en inmunidad e inflamación como *IFR7* y *TLR4* (36) y en regulación de la proliferación como *NF-kB* (15) y *SHIP1* (31). *miR-181a* se ha relacionado con genes que participan en la diferenciación granulocítica como *PRKCD*, *CTD5PL*, *CAMKK1* (37). *miR-223* se ha encontrado con expresión aumentada en leucemia linfocítica aguda y se ha evidenciado que sus genes blanco tienen una función supresora de tumores, como en el caso de *FBXW7* (38). En leucemia linfocítica crónica, *miR-15a* y *miR16-a* tienen expresión disminuida como consecuencia de la sobre-expresión de genes blancos como *BCL2*, el cual está involucrado en la vía intrínseca de la apoptosis, específicamente en el bloqueo de la muerte celular (39).

Pese a lo anteriormente expuesto, el número de genes blancos realmente descubiertos y validados para estos miRNA aún es incipiente y atrasado, en comparación con los desarrollos de otras áreas (40). Esta situación se agrava al considerar el hecho que sólo se necesita una homología de seis nucleótidos para que el miRNA ejerza su acción en el mRNA y porque los miRNA son expresados de una manera diferencial en cada tipo de célula y enfermedad (41). Por ejemplo, solo 6 publicaciones, para *miR-155* validan experimentalmente sus genes diana, 6 para *miR-181*, 4 para *miR-15a/16-1* y 3 para *miR-223*, en tabla suplemento 1 se especifican los genes identificados según leucemia y función.

Por otro lado, retomando, el hecho de que la Leucemia Mieloide Aguda conforma un grupo altamente heterogéneo de neoplasias hematológicas, diversos estudios han encontrado diferencias en el patrón de miRNAs tanto en subtipos incluidos en la clasificación de la OMS y FAB, como también en diversos subtipos citogenéticos y moleculares. De los 140 artículos incluidos en la revisión sistemática sobre Leucemia Mieloide Aguda, 54 no especifican el subtipo de leucemia o no encuentran diferencias estadísticamente significativas en la expresión de microRNAs entre los subtipos que estos evalúan. Los subtipos que presentan mayor frecuencia de estudios son la Leucemia Promielocítica Aguda con t (15,17) (q22;q12) (*PML-RARA*) y LMA con mutación FLT3-ITD ambos con 14 publicaciones (Ver Tabla Suplemento 2).

En cuanto la utilidad diagnóstica, perfiles diferenciales de miRNAs se han encontrado entre subtipos con anormalidades citogénéticas recurrentes como la t(8,21) y t (15,17), Daschkey S, et al; evidenció que miR-27a,-126, -150 y miR-223 fueron sobreexpresados significativamente en pacientes con t(8,21) en comparación con t(15,17). Así como también miR-100 es sobreexpresado en t(15,17) y sirve para discriminarla de la t(8,21) y otros subtipos (42). Por otro lado, el grupo de Debernardi S et al, encontró diferencias estadísticamente significativas en la expresión de miR-181a según subfase morfológica, los niveles de expresión de este miR son elevados en muestras con morfología M1 o M2, comparado con muestras con morfología M4 o M5 (43).

En adición a lo anterior, en el estudio del grupo de Dixon se halló una gran diferencia en el patrón de expresión miRNA en el subtipo t(15;17) con respecto a los demás, ya que sobreexpresaban diferencialmente *miR-127*, *miR-154*, *miR-299*, *miR-323*, *miR-368* y *miR-370* (44). Por su parte, Garzón y colaboradores, identificaron un perfil para leucemia mieloide aguda con mutación NPM1 que los diferenciaba de pacientes con esta neoplasia que no presentaron tal mutación, con sobreexpresión de *miR-10a*, *miR-10b*, varios *let-7* y miembros de la familia *miR-29*, y baja expresión de *miR-204* y *miR-128* (45) (Ver tabla suplemento 3)

Con respecto al pronóstico, cabe resaltar, que la sobre-expresión de miR-155, está asociada con la presentación inicial y pronóstico adverso en pacientes con mutación FLT3-ITD (46,47). Sobreexpresión de miR-378 afecta el pronóstico de la t(8,21) ya que está relacionado con bajos niveles de hemoglobina y diferencia en la supervivencia libre de recaída entre quienes expresaban el miR y quienes no (48). Sobreexpresión de miR -210 (49) y subregulación de miR 29^a (50) están relacionados con pronóstico adverso, y

hallados con mayor frecuencia en pacientes pediátricos con Leucemia Aguda megacarioblastica. En t (15,17) es de mal pronóstico el aumento en los niveles de miR-146a (51) (Ver Tabla suplemento 4).

MiRNA de importancia en el seguimiento a la respuesta al tratamiento han sido vinculados a varios subtipos de Leucemia Mieloide Aguda, miR-15a/16-1 y miR-125b en Leucemia Promielocítica Aguda con t(15,17) (52); miR-199b-5p, miR-301b, miR-326, miR-361-5p, miR-625, miR-655 con Leucemia Mieloide Aguda con maduración M2 según la clasificación de la FAB (53); miR-10a-5p con Leucemia Mieloide Aguda con mutación NPM1 (54), en tabla suplemento 5, se hace un análisis más detallado sobre la función de estos miRNAs (Ver tabla suplemento 5)

Finalmente, la introducción de técnicas avanzadas como los microarreglos, han permitido evidenciar que el transcriptoma humano es más complejo que los genes que codifican las proteínas, al tiempo que esta técnica ha permitido descubrir numerosos miRNAs (12); lo que se evidencia en esta revisión en la que alrededor del 90% de las publicaciones utilizaron técnicas basadas en microarreglos o Q-RT-PCR.

Entre las limitaciones de esta revisión está la baja respuesta de los autores de los estudios no disponibles en las bases de datos y el no incluir estudios en idiomas que los autores no dominan con el fin de para garantizar la calidad y la reproducibilidad en la inclusión de estudios, estos dos factores pueden afectar la generalización de resultados. Además, la elevada heterogeneidad de las publicaciones en las dos variables centrales de este estudio (tipo y subtipo de leucemia y miRNA) limitó los análisis de subgrupos para evaluar las aplicaciones en diagnóstico, pronóstico y seguimiento terapéutico.

Conclusión: La elevada heterogeneidad de los miRNAs identificados, así como sus variados usos en los diferentes tipos de leucemia, pone de manifiesto la necesidad de mejorar la investigación en este campo, previo a su incorporación en la práctica clínica, al tiempo que consolida hipótesis para optimizar los esfuerzos investigativos en este campo.

Conflicto de intereses: Ninguno de los autores declara conflicto de intereses para la publicación de este estudio.

Financiación: Recursos en especie de la Universidad de Antioquia.

Referencias bibliográficas

1. Zhao H, Wang D, Du W, Gu D, Yang R. MicroRNA and leukemia: Tiny molecule, great function. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2010 Jun; 74(3):149–55.
2. GLOBOCAN 2012 v1.0. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 11/11/2016.
3. World Health Organization. Global health estimates 2014 summary tables: daly by cause, age and sex, 2000-2012. Geneva: World Health Organization. 2014
4. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5):937–51.
5. Moro-Soria A. MicroRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Biotechnol Apl*. 2014 Jun;31(2):87–92.
6. Ardila-Molano J, Vizcaíno M, Serrano ML. Circulating microRNAs as potential cancer biomarkers. *Rev Colomb Cancerol*. 2015 Oct;19(4):229–38.
7. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res*. 2008 Oct 29;19(1):92–105.
8. Bartel DP, Chen C-Z. Opinion: Micromanagers of gene expression: the potentially widespread influence of metazoan microRNAs. *Nat Rev Genet*. 2004 May;5(5):396–400.
9. Miao M, Ji X, Zhang H, Xu J, Zhu H, Shao X. miR-590 promotes cell proliferation and invasion in T-cell acute lymphoblastic leukaemia by inhibiting RB1. *Oncotarget* [Internet]. 2016 Jun 28 [cited 2016 Dec 3]; Available from: <http://www.oncotarget.com/abstract/8414>.
10. Lai M, Xiao C. Functional interactions among members of the miR-17-92 cluster in lymphocyte development, differentiation and malignant transformation. *Int Immunopharmacol*. 2015 Oct;28(2):854–8.
11. Sato A, Omi T, Yamamoto A, Satake A, Hiramoto A, Masutani M, et al. MicroRNA-351 Regulates Two-Types of Cell Death, Necrosis and Apoptosis, Induced by 5-fluoro-2'-deoxyuridine. Roemer K, editor. *PLOS ONE*. 2016 Apr 12;11(4):e0153130.

12. Frontela, M. MicroRNAs en el cáncer: de la investigación a la práctica clínica. *Revista Cubana de Medicina*. 2012; 51(4):325–35
13. Chen C-Z, Lodish HF. MicroRNAs as regulators of mammalian hematopoiesis. *Semin Immunol*. 2005 Apr;17(2):155–65.
14. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U A*. 2002 11PY - 2002;99(24):15524–9.
15. Marcucci G, Maharry KS, Metzeler KH, Volinia S, Wu Y-Z, Mrozek K, et al. Clinical role of microRNAs in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: miR-155 upregulation independently identifies high-risk patients. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jun 10; 31(17):2086–93.
16. Kollinerova S, Vassanelli S, Modriansky M. The role of miR-29 family members in malignant hematopoiesis. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2014 Dec;158(4):489–501.
17. Aguirre X, Jimenez-Velasco A, San Jose-Eneriz E, Garate L, Bandres E, Cordeu L, et al. Down-regulation of hsa-miR-10a in chronic myeloid leukemia CD34+ cells increases USF2-mediated cell growth. *Mol Cancer Res MCR*. 2008;6(12):1830–40.
18. Ishihara K, Sasaki D, Tsuruda K, Inokuchi N, Nagai K, Hasegawa H, et al. Impact of miR-155 and miR-126 as novel biomarkers on the assessment of disease progression and prognosis in adult T-cell leukemia. *Cancer Epidemiol*. 2012 Dec;36(6):560–5.
19. Jinlong S, Lin F, Yonghui L, Li Y, Weidong W. Identification of let-7a-2-3p or/and miR-188-5p as prognostic biomarkers in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *PloS One*. 2015;10(2):e0118099.
20. Ferracin M, Zagatti B, Rizzotto L, Cavazzini F, Veronese A, Ciccone M, et al. MicroRNAs involvement in fludarabine refractory chronic lymphocytic leukemia. *Mol Cancer*. 2010; 9:123.
21. miRBase.org. The miRBase Sequence Database -- Release 21[internet]. Manchester, <http://mirbase.org/pub/mirbase/CURRENT/README> Consulta 06/07/2016.
22. Li Q, Liu L, Li W. Identification of circulating microRNAs as biomarkers in diagnosis of hematologic cancers: a meta-analysis. *Tumor Biol*. 2014;35:10467–10478).

23. Cardona J, Higuera L, Ríos L. Revisión Sistemática de la Literatura Científica: la investigación teórica como principio para el desarrollo de la ciencia básica y aplicada. Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia, Bogotá; 2016. p.1-95.
24. Urrútia G, Bonfill X. Declaración PRISMA: una propuesta para mejorar la publicación de revisiones sistemáticas y metaanálisis. *Med Clínica*. 2010 Oct; 135(11):507–11
25. Institute of Social and Preventive Medicine (ISPM). STROBE Statement. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology. Disponible en: <http://strobe-statement.org/index.php?id=available-checklists>, Consulta 11/11/2016.
26. National Science Board. Science and Engineering Indicators 2016. Estados Unidos Disponible en: <https://www.nsf.gov/statistics/2016/nsb20161/#/report> Consulta: 08/09/2016.
27. Investigación en América Latina. *Inf Tecnológica*. 2011;22(3):1–1.
28. Wong K-Y, Yim RL-H, Kwong Y-L, Leung C-Y, Hui P-K, Cheung F, et al. Epigenetic inactivation of the MIR129-2 in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2013;6:16.
29. Dzikiewicz-Krawczyk A, Macieja A, Maly E, Januszkiewicz-Lewandowska D, Mosor M, Fichna M, et al. Polymorphisms in microRNA target sites modulate risk of lymphoblastic and myeloid leukemias and affect microRNA binding. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2014;7:43.
30. Faraoni I, Antonetti FR, Cardone J, Bonmassar E. miR-155 gene: A typical multifunctional microRNA. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. 2009 Jun;1792(6):497–505.
31. Xue H, Hua L-M, Guo M, Luo J-M. SHIP1 is targeted by miR-155 in acute myeloid leukemia. *Oncol Rep*. 2014 Nov;32(5):2253–9.
32. Pulikkan JA, Dengler V, Peramangalam PS, Peer Zada AA, Muller-Tidow C, Bohlander SK, et al. Cell-cycle regulator E2F1 and microRNA-223 comprise an autoregulatory negative feedback loop in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2010 Mar 4;115(9):1768–78.
33. Xu L-H, Guo Y, Cen J-N, Yan W-Y, He H-L, Niu Y-N, et al. Overexpressed miR-155 is associated with initial presentation and poor outcome in Chinese pediatric acute myeloid leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2015 Dec;19(24):4841–50.

34. Gerloff D, Grundler R, Wurm A, Brauer-Hartmann D, Katzerke C, Hartmann J-U, et al. NF-[kappa]B/STAT5/miR-155 network targets PU.1 in FLT3-ITD-driven acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2015;
35. Salemi D, Cammarata G, Agueli C, Augugliaro L, Corrado C, Bica M, et al. miR-155 regulative network in FLT3 mutated acute myeloid leukemia. *Leukemia research*. 2015; 39(8), 883-896.
36. Havelange V, Stauffer N, Heaphy CCE, Volinia S, Andreeff M, Marcucci G, et al. Functional implications of microRNAs in acute myeloid leukemia by integrating microRNA and messenger RNA expression profiling. *Cancer*. 2011 Oct 15;117(20):4696–706.
37. Su R, Lin H-S, Zhang X-H, Yin X-L, Ning H-M, Liu B, et al. MiR-181 family: regulators of myeloid differentiation and acute myeloid leukemia as well as potential therapeutic targets. *Oncogene*. 2015 Jun; 34(25):3226–39.
38. Mansour MR, Sanda T, Lawton LN, Li X, Kreslavsky T, Novina CD, et al. The TAL1 complex targets the FBXW7 tumor suppressor by activating miR-223 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Med*. 2013 Jul 29;210(8):1545–57.
39. Humplikova L, Kollinerova S, Papajik T, Pikalova Z, Holzerova M, Prochazka V, et al. Expression of miR-15a and miR-16-1 in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2013 Dec;157(4):284–93.
40. Akbari Moqadam F, Pieters R, den Boer ML. The hunting of targets: challenge in miRNA research. *Leukemia*. 2013 Jan; 27(1):16–23.
41. Bartels C, Tsongalis J. MicroRNAs: novel biomarkers for human cancer. *Clinical chemistry*. 2009; 55(4), 623-631.
42. Daschkey S, Röttger S, Giri A, Bradtke J, Teigler-Schlegel A, Meister G et al. MicroRNAs distinguish cytogenetic subgroups in pediatric AML and contribute to complex regulatory networks in AML-relevant pathways. *PLoS One*. 2013, 8(2), e56334.
43. Debernardi S, Skoulakis S, Molloy G, Chaplin T, Dixon-McIver A, Young, B. D. MicroRNA miR-181a correlates with morphological sub-class of acute myeloid leukaemia and the expression of its target genes in global genome-wide analysis. *Leukemia*. 2007; 21(5), 912-916.
44. Dixon-McIver A, East P, Mein CA, Cazier JB, Molloy G, Chaplin T, et al. Distinctive patterns of microRNA expression associated with karyotype in acute myeloid leukaemia. *PLoS One*. 2008 05PY - 2008;3(5):e2141–e2141.

45. Garzon R, Garofalo M, Martelli MP, Briesewitz R, Wang L, Fernandez-Cymering C, et al. Distinctive microRNA signature of acute myeloid leukemia bearing cytoplasmic mutated nucleophosmin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Mar 11;105(10):3945–50.
46. Xu L, Guo Y, Cen J, Yan W, He H, Niu Y et al. Overexpressed miR-155 is associated with initial presentation and poor outcome in chinese pediatric acute myeloid leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015; 19(24), 4841-50.
47. Whitman S, Maharry K, Radmacher M, Becker H, Mrózek K, Margeson D, et al. FLT3 internal tandem duplication associates with adverse outcome and gene-and microRNA-expression signatures in patients 60 years of age or older with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 2010; 116(18), 3622-3626.
48. Qian J, Lin J, Qian W, Ma J, Qian S, Li, Y, et al. Overexpression of miR-378 is frequent and may affect treatment outcomes in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia research* 2013 37(7), 765-768.
49. Tang, X., Chen, L., Yan, X., Li, Y., Xiong, Y., & Zhou, X. (2015). Overexpression of miR-210 is associated with poor prognosis of acute myeloid leukemia. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 21, 3427.
50. Zhu C, Wang Y, Kuai W, Sun X, Chen H, Hong, Z. Prognostic value of miR-29a expression in pediatric acute myeloid leukemia. *Clinical biochemistry* 2013 46(1), 49-53.
51. Xu, L., Zhong, H., Wan, H., Chen, F. Y., Zhong, J., Xiao, F., ... & Shen, L. (2014). miR-146a expression level as a novel putative prognostic marker for acute promyelocytic leukemia. *Disease markers*, 2014.
52. Gao S, Yang J, Chen C, Zhang S, Xing C, Jiang, L. miR-15a/16-1 enhances retinoic acid-mediated differentiation of leukemic cells and is up-regulated by retinoic acid. *Leukemia & lymphoma* 2011, 52(12), 2365-2371.
53. Koutova L, Sterbova M, Pazourkova E, Pospisilova S, Svobodova I, Horinek A, et al, The impact of standard chemotherapy on miRNA signature in plasma in AML patients. *Leukemia research* 2015, 39(12), 1389-1395
54. Havelange V, Ranganathan P, Geyer S, Nicolet D, Huang X, Yu X et al. Implications of the miR-10 family in chemotherapy response of NPM1-mutated AML. *Blood* 2014; 123(15), 2412-2415

