

¿Desempeñan un papel relevante los micro-ARN en el desarrollo de la poliquistosis renal del adulto?

Lakhia R, Ramalingam H, Chang CM, Cobo-Stark P, Biggers L, Flaten A, et al. PKD1 and PKD2 mRNA cis-inhibition drives polycystic kidney disease progression. *Nat Commun.* 2022;13:4765.

Análisis crítico: **Eliecer Coto, Helena Gil-Peña**

Genética Molecular. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo

Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Oviedo

Red de Investigación Cooperativa Orientada a Resultados en Salud de Enfermedad Renal (RICORS2040)

NefroPlus 2023;15(1):65-67

© 2023 Sociedad Española de Nefrología. Servicios de edición de Elsevier España S.L.U.

■ Tipo de diseño y seguimiento

- Estudio de ratones transgénicos (*knock-out*) con una copia mutada del gen *pkd1*, a los que se les eliminaron nucleótidos de la región 3' no traducida (3'UTR) del gen mediante tecnología CRISPR/cas9. Estas bases forman una secuencia diana para el micro-ARN miR-17. Los tejidos y las células de estos ratones se analizaron en diferentes fases del desarrollo embrionario y adulto mediante inmunohistoquímica, cuantificación de los niveles de ARN y de proteínas. Los hallazgos en los modelos murinos se replicaron sobre células derivadas de 4 pacientes con poliquistosis renal del adulto (ADPKD) portadores de una mutación en el gen *PKD1* o *PKD2*, a las cuales se les eliminó la secuencia para miR-17 en la región 3'UTR.

■ Objetivos

Analizar el papel de los micro-ARN y, en concreto, de miR-17 en la regulación de los niveles de ARN mensajero (ARNm) de los genes *PKD1* y *PKD2*. Demostrar que miR-17 desempeña un papel en el desarrollo de los

quistes al regular los niveles de las proteínas policistina 1 y 2 en el riñón adulto.

■ Variables de resultado

- Niveles de expresión de ARNm y proteínas en riñones y líneas celulares de ratones modificados para el gen *pkd1*.
- Efecto sobre la cistogénesis renal de la manipulación del gen *pkd1* en los ratones transgénicos.
- Reversión del fenotipo poliúístico mediante inhibidores de miR-17.
- Medición del efecto sobre la cistogénesis de la eliminación del sitio miR-17 en líneas celulares humanas con mutación en *PKD1* o *PKD2*.

■ Análisis estadístico

Se verificó la reproducibilidad de todos los experimentos y los datos se obtuvieron de, al menos, tres replicados. Se emplearon la prueba de la *t* de Student y la prueba de ANOVA para comparar los grupos, con la prueba *post-hoc* de Tukey para las comparaciones múltiples. Nivel de significación estadística: $p < 0,05$.

■ RESULTADOS PRINCIPALES

- En los modelos con una copia mutada del gen *PKD1*, la segunda copia (no mutada) del ARNm del gen puede ser eliminada mediante unión de miR-17 a su región 3'UTR. Esta unión «señala» al ARNm para su degradación y reduce los niveles de la proteína codificada.
- En los ratones transgénicos, al eliminar el sitio para miR-17 se incrementa la estabilidad de la copia no mutada del ARN de *PKD1*, lo que incrementa los niveles de la policistina 1 y disminuye la capacidad para formar quistes tanto en los animales como en las células derivadas de estos.
- El gen *PKD2* presenta el mismo patrón de regulación por miR-17 y la eliminación del sitio para este micro-ARN incrementa los niveles de policistina 2 con reducción de la capacidad cistogénica.
- El tratamiento con inhibidores de miR-17 reduce la capacidad cistogénica de las mutaciones en *PKD1* y *PKD2*.
- Los resultados de los modelos de ratón se confirmaron sobre líneas celulares de pacientes con ADPKD y portadores de mutaciones en *PKD1* o *PKD2*.

Revisión por expertos bajo la responsabilidad de la Sociedad Española de Nefrología.

- La eliminación de miR-17 o su inhibición farmacológica provocó una menor proliferación celular con quistes más pequeños.
- Estos resultados abren nuevas líneas de investigación para tratar la enfermedad poliquística mediante el empleo de inhibidores de micro-ARN.

■ CONCLUSIONES DE LOS AUTORES

El estudio apunta a un mecanismo para explicar cómo se reduce la cantidad de policistinas en las células de los pacientes poliquísticos. En concreto, a través de la unión de miR-17 a los ARNm se promueve la degradación de estos y menores niveles de ARNm se traducen en menos proteína. Por debajo de un nivel crítico de estas policistinas, la célula entra en una fase proliferativa con evolución hacia el fenotipo quístico. Este mecanismo regulador mediante micro-ARN hallado en ratones se confirmó en células humanas. El efecto proquístico de miR-17 se revirtió mediante inhibidores de este micro-ARN, lo que apunta a un posible uso terapéutico. Este estudio abre la puerta a investigaciones para definir el papel de otros micro-ARN en las enfermedades quísticas.

■ COMENTARIOS DE LOS REVISORES

Los micro-ARN son una clase de ARN cortos (unas 20 bases) no codificantes, cuya función principal es la regulación de los niveles de ARNm y, por extensión, los de las proteínas que codifican. Estos micro-ARN reconocen secuencias complementarias en las regiones 3' no traducidas (3'UTR) de los ARNm, marcándolos para su degradación. Por tanto, la sobreexpresión de los micro-ARN que reconocen un ARN concreto en una célula conllevaría menor expresión de la proteína codificada. Por el contrario, una menor expresión de los micro-ARN podría provocar mayor cantidad del ARNm y de la proteína codificada. En el genoma humano se han identificado varios centenares de micro-ARN, codificados por secuencias en el ADN sujetas a mecanismos de regulación de la expresión similares a los de cualquier gen. Por tanto, los niveles de un micro-ARN en un tejido pueden ser característicos de este y su expresión estar sometida a los correspondientes cambios fisiológicos. En este sentido, los niveles del micro-ARN serían marcadores tanto de un estado normal como de uno patológico, bien por estar sobre- o infraexpresados. Desde su descubrimiento se han estudiado los niveles de micro-ARN en tejidos normales y procedentes de órganos enfermos, como los riñones. Estos niveles pueden cambiar con la progresión de la enfermedad y, por tanto, son marcadores biológicos característicos de estadios concretos. Una característica importante es que pueden detectarse en los fluidos biológicos. Estos micro-ARN circulantes procederían del tejido correspondiente y los niveles en fluidos como la sangre o la orina se han correlacionado con fases concretas de la enfermedad. Podrían, por tanto, utilizarse como posibles biomarcadores de diagnóstico y pronóstico.

En el artículo objeto de este comentario, Lakhia et al. presentan evidencias de que un micro-ARN designado como miR-17 puede unirse a los ARNm de los genes *PKD1* y *PKD2*, mutados en los pacientes con ADPKD. La formación de los quistes a partir de una célula tiene lugar cuando los niveles de las proteínas policistinas caen por debajo de un umbral crítico (fig. 1). Los pacientes que heredan una mutación tendrían mayor probabilidad de que una célula alcanzase esa reducción, lo que explicaría su predisposición a manifestar múltiples quistes en ambos riñones comparados con las personas que no han heredado una mutación. Desde el descubrimiento de los genes *PKD* varios autores identificaron una segunda mutación en la copia no mutada del gen en las células epiteliales de los quistes. Estas mutaciones eran diferentes entre los quistes del mismo individuo, lo que indicaba un segundo evento mutacional adquirido para inactivar las dos copias del gen en una célula concreta, que entraría así en una expansión clonal para dar lugar al quiste. Este modelo se conoce como el de los *two hits* y es similar al que explica el origen de los cánceres hereditarios, en los que el paciente hereda una mutación de uno de los progenitores y una célula se vuelve tumoral tras adquirir una segunda mutación en la otra copia del gen.

El trabajo que se comenta amplía el mecanismo de la cistogénesis al incorporar a los micro-ARN como elementos reguladores de la expresión de las policistinas. Este hallazgo abre la posibilidad de emplear inhibidores de los micro-ARN para incrementar la estabilidad de los ARNm y los niveles de las proteínas, reduciendo el potencial cistogénico de las células portadoras de mutaciones en los genes *ADPKD*. Más allá de lo que representan en investigación básica, los micro-ARN han alcanzado aplicación terapéutica en algunos cánceres y uno (inclirán) con capacidad para unirse y reducir los niveles de una proteína reguladora de los niveles del receptor de lipoproteína de baja densidad (LDL) está actualmente pendiente de aprobación para el tratamiento de la hipercolesterolemia.

■ CONCLUSIONES DE LOS REVISORES

La investigación comentada sienta las bases para definir un mecanismo regulador de la cistogénesis en los pacientes con ADPKD y, quizás, otras enfermedades quísticas. Más allá de su valoración como investigación básica de gran relevancia, se abren vías para investigar el potencial terapéutico de los inhibidores de micro-ARN para reducir la capacidad de las células de los pacientes con mutaciones en las policistinas para formar quistes renales. El potencial terapéutico de los micro-ARN es conocido para otras enfermedades, fundamentalmente oncológicas.

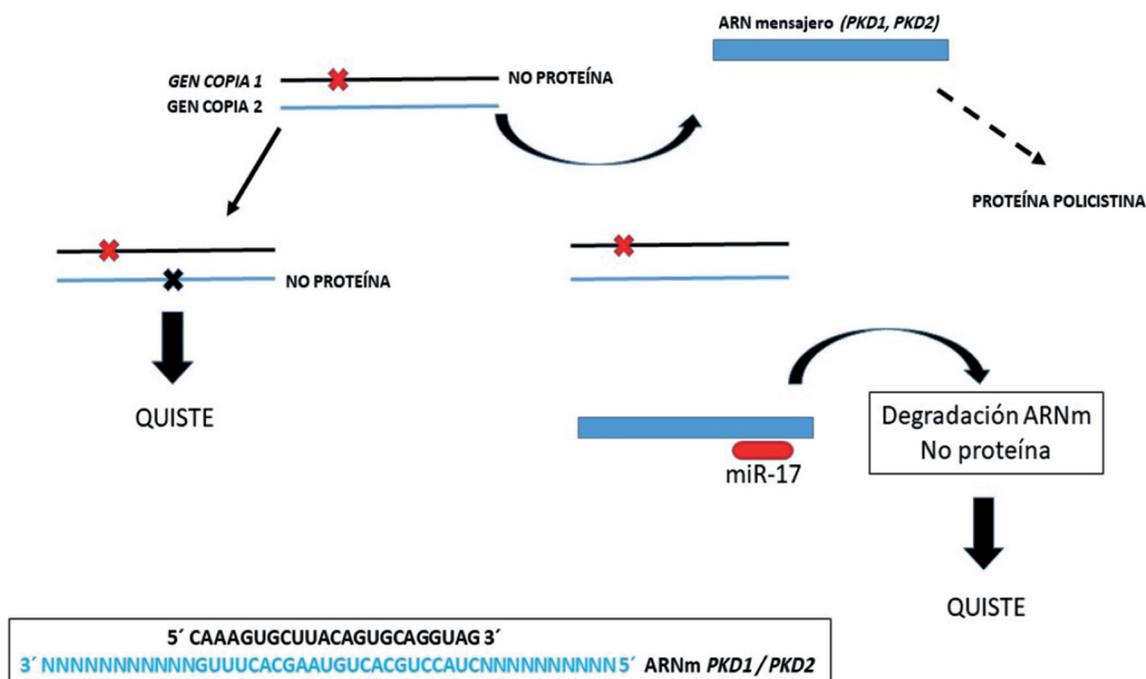


Figura 1. La formación de un quiste renal empieza cuando en una célula los niveles de la proteína policistina bajan de un nivel «crítico». En una célula de una persona que ha heredado una mutación en una de las copias de *PKD1* o *PKD2*, la segunda copia del gen codificará una cantidad de proteína suficiente hasta que algún mecanismo que reduzca la expresión de esta copia inicie la proliferación celular y formación del quiste. Hasta ahora se consideraba que el segundo evento sería una mutación en la copia «buena» del gen. El estudio que se comenta presenta evidencias de que la unión de un micro-ARN al ARN mensajero codificado por esta copia podría reducir la expresión de la policistina por debajo del nivel crítico. La unión del micro-ARN (en este caso, miR-17) de forma complementaria al ARN mensajero de *PKD1* o *PKD2* «señalaría» a estos para su degradación. La disminución de los niveles del ARNm se traducirá en menor cantidad de proteína y desarrollo del quiste.

■ CLASIFICACIÓN

Subespecialidad: Micro-ARN y enfermedad renal

Tema: Poliquistosis renal autosómica dominante o del adulto

Tipo de artículo: Mecanismos genéticos de la enfermedad

Palabras clave: Poliquistosis renal del adulto. Gen *PKD1*. Gen *PKD2*. Micro-ARN

NIVEL DE EVIDENCIA: Medio (prueba de concepto)

GRADO DE RECOMENDACIÓN: Alto

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses relacionados con este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS RECOMENDADAS

Leonhard WN, Happe H, Peters DJ. Variable Cyst Development in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: The Biologic Context. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27:3530-8. doi: 10.1681/ASN.2016040425. PMID: 27493259.

Motshwari DD, Matshazi DM, Erasmus RT, Kengne AP, Matsha TE, George C. MicroRNAs Associated with Chronic Kidney Disease in the General Population and High-Risk Subgroups-A Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2023;24:1792. doi: 10.3390/ijms24021792. PMID: 36675311.