

“El ejercicio en el paciente EPOC: Rol de los microARNs”

Exercise in COPD patients: Role of microRNAs

Karimé González Gajardo

Universidad Católica del Maule, Talca

Título Abreviado

miARNs, ejercicio y EPOC

Información del Artículo

Recepción: 28 de abril de 2015

Aceptación: 7 de mayo de 2015

RESUMEN

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es la cuarta causa de muerte a nivel mundial y se caracteriza por daño crónico a las vías aéreas y parénquima pulmonar, asociado a inflamación local y sistémica. El conocimiento de las bases moleculares que sustentan tales alteraciones puede ser de utilidad para el desarrollo de nuevos y efectivos métodos de evaluación y terapia. En las últimas décadas, se descubrió que la expresión génica puede ser regulada de manera post-transcripcional por un tipo de ARNs no-codificante, denominado microARN (miARN). Varios tipos de miARN se relacionan con procesos biológicos como la proliferación, diferenciación y maduración de las células musculares. El rol de los miARNs como biomarcadores diagnósticos y terapéuticos deriva de la presencia de miARNs extracelulares, lo que hace posible su pesquisa en distintos fluidos corporales. También, se ha detectado la desregulación en los niveles de expresión de varios miARNs en pacientes EPOC y su relación con las alteraciones observadas en esta patología. Además, se han documentado cambios en el perfil de expresión de los miARNs luego del ejercicio en sujetos sanos, lo que puede ser un foco de investigación relevante para la fundamentación de las intervenciones kinésicas desde una perspectiva biológica en un contexto clínico. Así, esta revisión agrupa el conocimiento actual en torno a los procesos mediados por miARNs en la génesis y progresión de la EPOC y analiza su potencial relación con las adaptaciones inducidas por el ejercicio en estos pacientes.

Palabras Clave: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, miARN y ejercicio.

ABSTRACT

Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is the fourth leading cause of death worldwide and it is characterized by an airway and lung parenchyma chronic injury associated to a local and systemic inflammation. The molecular basis knowledge that support such alterations can be useful for the development of newer and more efficient treatment and evaluation methods. In the last decades it was discovered that gene expression can be modulated in a post-transcriptional way by a non-codifying RNA, called microRNA (miRNA). Several types of miRNAs are related to biological processes, such as proliferation, differentiation and maturation of muscle cells. The role of miRNAs as diagnostic and therapeutic biomarkers derives from the presence of extracellular miRNAs, which allows its screening in different corporal fluids. Also, it has been detected deregulation of expression levels of several miRNAs in COPD patients and its relationship with the observed alterations in this pathology. Furthermore, changes have been documented in the expression profile of miRNAs of healthy subjects, which may be a relevant investigation focus to give ground in a clinical context from a biological perspective to the physical therapy interventions. Thus, this review collects the actual knowledge about both genesis and progression of miARN mediated processes in COPD and analyzes their potential relationship with exercise-induced adaptations in these patients.

Key words: Chronic Obstructive Pulmonary Disease, miRNA, exercise.

Introducción

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) ha manifestado un continuo incremento a lo largo de los años y se ha convertido en la cuarta causa de muerte a nivel mundial¹. Se caracteriza por un daño crónico a las vías aéreas y al parénquima pulmonar y por una respuesta inflamatoria anormal, tanto local como sistémica². El cuadro involucra un aumento de células inflamatorias y alteraciones estructurales y el estudio de los mecanismos que modulan este proceso es clave para la comprensión de la patogénesis de la EPOC y el desarrollo de nuevas modalidades de evaluación y terapia³.

Es por esto que un área de investigación que ha generado interés se centra en el rol de los microARN (miARN) como biomarcadores clínicos, ya que se ha identificado una alteración en su expresión en patologías como el cáncer⁴, obesidad⁵ y diabetes tipo II⁶, entre otros. Los miARNs son un tipo de ARN no codificante que puede modular la expresión génica de manera post-transcripcional, descubiertos en 1993 en *Caenorhabditis Elegans*⁷. Sin embargo, solo recientemente se ha confirmado su capacidad de regular diversos procesos biológicos y su respuesta ante estímulos externos. Actualmente, se conocen más de dos mil miARNs y su número sigue creciendo⁸. Dentro de las características que convierten a los miARNs en biomarcadores atractivos, destaca que se han reportado niveles significativos de miARNs circulantes en diversos fluidos corporales de forma estable y que su expresión es altamente específica entre los tejidos y etapas de desarrollo⁹.

Por otra parte, se ha observado que la expresión de ciertos miARNs responde de forma selectiva frente a condiciones de ejercicio, lo que ha permitido complementar la comprensión sobre los mecanismos involucrados en los beneficios del ejercicio en sujetos sanos¹⁰. Se ha estudiado también el efecto del ejercicio sobre la expresión de miARNs en procesos biológicos y en patologías crónicas no-transmisibles como la hipertensión¹¹ y la obesidad¹². Sin embargo, el rol de los miARNs en los beneficios del ejercicio para pacientes EPOC está escasamente documentado.

Así, esta revisión tiene como objetivo agrupar el conocimiento actual en torno a los procesos mediados por miARNs en la génesis de la EPOC y analizar su potencial relación con las adaptaciones inducidas por el ejercicio en estos pacientes.

Para ello, se utilizó la base de datos PubMed Central®, introduciendo las palabras clave: microRNAs, Chronic Obstructive Pulmonary Disease y exercise, activando filtros que permitieran recolectar artículos originales de los últimos 5 años. Luego del análisis por título y resúmenes, se seleccionaron los más relevantes para la temática de investigación. Además, se utilizó la búsqueda manual de artículos, en caso de ser necesario. Primero, se expondrán conceptos básicos sobre los microARNs y luego se analizará su participación en la EPOC y en las adaptaciones inducidas por ejercicio.

Biogénesis, función y transporte de los miARNs

Los miARNs son procesados a partir de transcriptos largos en forma de tallo-lazo que pueden estar ubicados en: un exón de un ARN no-codificante, un intrón de un ARN-no codificante, un intrón de un ARNm-codificante o bien dentro del extremo 3' de la región no traducida de ARNm-codificante^{13, 14}. Este último caso sugiere la existencia de una coexpresión regulada entre el miARN y su respectivo ARNm *target*¹⁴. La presencia de una estructura cap de metilguanosa y una cola poli-adenilada indica la participación de la ARN Polimerasa II (ARN pol-II) en el proceso de transcripción y se ha comprobado asociación directa entre ARN pol-II y varios miARNs¹⁵. Sin embargo, también se ha descrito que la ARN Polimerasa III transcribe los miARNs intercalados en secuencias Alu del cromosoma 19¹⁶. En cualquier caso, en la transcripción se genera un miARN primario (pri-miARN) de alrededor de unos varios cientos de nucleótidos de longitud. Dentro del núcleo es procesado por el complejo enzimático Drossha/DGCR8, que se une al lazo terminal y corta el tallo para liberar un pre-miARN de aproximadamente 80 nucleótidos de longitud con 2 nucleótidos protuberantes en el extremo 3' (reconocidos por todos los factores cascada abajo de la biogénesis) el que es exportado al citoplasma con la ayuda de una proteína Exportina-5 dependiente de la GTPasa Ran^{17, 18}. Una vez ahí, la hebra de pre-miARN es nuevamente procesada por la endorribonucleasa Dicer y libera un duplicado de miARN de alrededor de 21 nucleótidos de longitud, constituido por la hebra precursora de miARN y su hebra complementaria. Los duplicados de miARN no duran mucho en la célula, por lo que una hebra puede ser degradada, o bien, continuar de manera funcional¹⁹. Usualmente, la hebra con el extremo 5' ubicado en el extremo terminal termodinámicamente más inestable, es la que permanece y es incorporada al Complejo Si-

lenciador Inducido por ARN (RISC, por sus siglas en inglés). Ello le permite reconocer a su ARNm *target* a través de un mecanismo de interacción complementaria de regiones específicas entre el miARN y el ARNm, uniéndose al extremo 3' del ARNm¹⁹⁻²¹. Esta interacción puede conducir a una degradación del ARNm o a la inhibición de su traducción. El apareamiento perfecto del miARN con su ARNm *target* conduce primero a la desadenilación de la cola poli-A del ARNm y, finalmente, su degradación, pero es escaso en seres humanos²². Por otro lado, el apareamiento imperfecto conduce a una represión de la traducción y tiene como principal requerimiento la existencia de un apareamiento contiguo y perfecto de los nucleótidos 2-8 del miARN - conocido como la "secuencia semilla" - y el ARNm^{20, 22}. Puede conducir a la inhibición de la etapa de iniciación de la traducción, o bien, inhibir etapas post-iniciación²².

Se han encontrado miARNs en el medio extracelular en varios fluidos corporales de forma estable, lo que sugiere que su función puede extenderse y mediar la comunicación célula a célula. Para evitar su degradación por RNAsas, los miARNs pueden ser empaquetados en vesículas lipídicas: las microvesículas y los exosomas²³. Las microvesículas son producto de la evaginación de la membrana celular y los exosomas son derivados del endosoma que se fusionan con la membrana celular para ser exportados²⁴. Además, los exosomas pueden ser reconocidos por una célula *target* me-

dante interacción ligando-receptor en un mecanismo similar al utilizado por las células presentadoras de antígenos o fusionarse con su membrana celular o ser internalizados mediante endocitosis²⁴. Se ha identificado un mecanismo de protección dependiente de proteínas de unión a ARN como nucleofosmina 1 (NPM1), una proteína intracelular que también se ha detectado fuera de la célula²³. El conocimiento de este transporte de información genética ha revolucionado la comprensión sobre los mecanismos de comunicación celular.

Rol de los miARNs en la EPOC

La EPOC se caracteriza por una limitación crónica al flujo aéreo debida al daño a las vías aéreas y el parénquima pulmonar y a una respuesta inflamatoria anormal tanto local como sistémica. Se ha observado que los miARNs pueden regular estos procesos al interferir de manera post-transcripcional en la expresión de los genes activados^{2, 3}. Tanto el tipo de alteración en el nivel de expresión como el mecanismo de acción propuesto para cada miARN, se resumen en la Tabla 1 y se detallan en los siguientes párrafos.

El análisis de muestras de secreción bronquial en sujetos con EPOC ha evidenciado disminución en la expresión del miARN *Let-7c* con el consecuente aumento en los niveles del Receptor del Factor de Necrosis Tumoral tipo II (TNFR-II), su *target*, involucrado en la

Tabla 1. miARNs involucrados en la EPOC, con sus respectivos mecanismos de acción sugeridos.

miARN	Nivel de expresión	Mecanismo de acción
Let-7c ³⁷	Disminuido	Aumento en los niveles de TNFR-II soluble
miR-146a ³⁹	Disminuido	Aumento en la expresión de COX2 y niveles de Prostaglandina E2
miR-34c ⁴¹	Disminuido	Aumento en la expresión de SERPINE1
miR-452 ⁴⁴	Disminuido	Aumento en la expresión de MMP12
miR-199a-5p, miR-34a ⁴⁸	Incrementado	Disminución en la expresión de HIF-1α
miR-499 ⁴⁹	Incrementado	Aumento en los niveles de NF-κB
miR-1 ^{49,53}	Disminuido	Aumento en los niveles de HDAC4
miR-206 ^{49,55}	Incrementado	Relación con el aumento en los niveles de citoquinas inflamatorias plasmáticas

patogénesis de la enfermedad^{25,26}. Además de Let-7c, la expresión de miR-125b, miR-26a y miR-34b también se encuentra reducida en estas células que son claves en la patogénesis de la EPOC y expresan TNFR-II. Los niveles de estos miARNs también se correlacionaron con el %VEF1 predicho, lo que sugiere que podrían ser determinantes tanto en el estado inflamatorio como en la progresión de la enfermedad²⁵.

La producción de Prostaglandina E2 (PGE2), un mediador inflamatorio y potente inhibidor de la capacidad de reparación de los fibroblastos, se encuentra aumentada en pacientes EPOC en respuesta a estimulación con citoquinas (IL-1 β y TNF- α)^{27, 28}. El incremento en PGE2 depende directamente de la expresión del ARNm de COX-2, target de miR-146a. La expresión de miR-146a en respuesta a la estimulación con citoquinas es baja en pacientes EPOC, lo que genera un aumento en la vida media del ARNm de COX-2. El aumento en los niveles de expresión de COX-2 estimula la producción de Prostaglandina E2 (PGE2)²⁸. Además, la expresión de miR-146a se correlacionó directamente con el %VEF predicho y con la capacidad de difusión. Así, miR-146a también parece tener un rol importante en el origen de la respuesta inflamatoria anormal en la EPOC y alteración en los procesos de reparación.

Por otra parte, la expresión de los miARNs se ha asociado con la severidad del enfisema en pacientes EPOC²⁹. La reducción en la expresión de miR-34c en estos pacientes, genera un incremento en la expresión de su *target*, el ARNm de SERPINE1, un inhibidor de proteasas y fibrinólisis involucrado en la severidad y progresión del enfisema^{29, 30}. Más aún, el desarrollo de enfisemas se asocia también con alteración en la expresión de Metaloproteinasas de matriz 12 (MMP12), importantes enzimas que degradan la elastina y que se encuentran sobre reguladas en macrófagos alveolares de pacientes con EPOC³¹. La notable disminución de miR-452 en individuos con EPOC, se relaciona con una sobreexpresión de MMP12 por parte de los macrófagos alveolares³².

También, se ha reportado una reducción de la expresión del Factor-1 α Inducido por Hipoxia (HIF-1 α) en los pulmones de pacientes EPOC y se señala que la vía de AKT está implicada en su regulación^{33, 34}. HIF-1 α regula la expresión de genes involucrados en el crecimiento y proliferación de células vasculares endoteliales pulmonares en respuesta a la hipoxia³⁵. El actual modelo propone que el estrés oxidativo produce un

incremento en la expresión de la proteína p53 y lo que induce un aumento en la expresión de miR-34a y reduce la fosforilación de AKT. Por su parte, la inactivación de AKT estimula la sobreexpresión de miR-199a-5p, lo que finalmente desencadena una disminución de la expresión de HIF-1 α ³⁶. Estos datos sugieren que tanto miR-199a-5p como miR-34a podrían contribuir en el desarrollo de apoptosis celular y enfisema en la EPOC.

Paralelamente, la inflamación sistémica en la EPOC desencadena disfunción musculoesquelética, lo que condiciona fuertemente una disminución en la calidad de vida en estos pacientes². Se ha identificado la alteración de los niveles plasmáticos de varios miARNs circulantes específicos de tejido muscular en pacientes EPOC, como miR-1, miR-133, miR-206 y miR-499³⁷.

miR-499 es específico de las fibras tipo I y está encargado de su mantenimiento. Se postula que su secreción directa desde las fibras tipo I podría ser un requisito importante para el cambio de fibras en los pacientes EPOC (de fibra tipo I a fibra tipo II). Más aún, miR-499 se correlacionó directamente con los niveles de Factor Nuclear-kappa B (NF- κ B) en pacientes con EPOC en etapa temprana, donde este proceso está más activo³⁷. NF- κ B constituye una vía de señalización relevante como enlace entre la inflamación sistémica y la pérdida de masa muscular y su activación genera degradación de proteínas, inflamación, fibrosis y bloqueo de la regeneración de miofibras³⁸. Otros miARNs que se asocian con la vía de señalización de NF- κ B son miR-146, miR-155, miR-21 y miR-301a³⁹.

El microARN miR-1 es regulado por el eje Factor de Transcripción Relacionado a la Miocardina (MTRF)/Factor de Respuesta al Suero (SRF) y modula la proliferación y diferenciación celular. La actividad del eje MTRF/SRF se encuentra disminuida en pacientes EPOC y, consecuentemente, también la expresión de la Miosina de Cadena Pesada tipo 1 (MHCI) y de miR-1. La disminución de miR-1 produce un aumento en los niveles de la proteína Histona Deacetilasa tipo 4 (HDAC4). HDAC4 inhibe la actividad de SRF y por lo tanto constituye un mecanismo de regulación de la expresión de MHCI que contribuiría a la reducción de la masa muscular y al cambio del tipo de fibra muscular⁴⁰. Paradójicamente, miR-1 además tiene como target el Factor de Crecimiento Insulínico tipo I (IGF-1) y su receptor. El incremento de IGF-1, podría ser explicado por un mecanismo compensatorio de hipertrofia muscular en pacientes con EPOC⁴¹.

Finalmente, el incremento en los niveles miR-206 circulantes, se asocia con un incremento en las citoquinas inflamatorias plasmáticas en EPOC avanzada, lo que concuerda con el hallazgo de una correlación negativa entre miR-206 y la función del músculo cuádriceps, pero su mecanismo de regulación no está claramente definido^{37, 42}. Estos datos sugieren que el deterioro muscular en etapas avanzadas de la enfermedad, podría estar asociado a la inflamación sistémica.

miARNs, ejercicio y EPOC

El ejercicio induce muchos cambios en el organismo y sus beneficios están bien documentados en pacientes EPOC⁴³. La inflamación sistémica en la EPOC tiene un importante rol en la pérdida de masa muscular y disminución de la tolerancia al ejercicio⁴⁴. El ejercicio modifica la expresión de una gran cantidad de miARNs, como miR-20a, miR-210, miR-221, miR-222, miR-328, miR-21, miR-146a que se relacionan con inflamación, contractibilidad cardíaca y muscular y adaptación a la isquemia e hipoxia¹⁰. Los miARNs específicos del tejido muscular más estudiados, relacionados con las adaptaciones al ejercicio son miR-133a/b, miR-206 y miR-1. Se les ha agrupado bajo el concepto de "miomirs"⁴⁵. El ejercicio puede generar cambios en los niveles de expresión de los miomirs por lo que se ha propuesto que pueden ser marcadores relevantes de capacidad aeróbica, si bien su estudio se ha enfocado principalmente en sujetos sanos^{46, 47}.

La regulación dinámica de los miARNs durante el ejercicio depende de la modalidad utilizada, manifestando distintos perfiles de expresión. Los niveles de miR-1 y miR-133a se incrementan en respuesta a una dosis de ejercicio aguda en sujetos no entrenados, pero no en sujetos entrenados, por lo que se postula que participan durante el período de adaptación al ejercicio⁴⁶. Por otra parte, se ha detectado que miR-206 disminuye significativamente en el vasto lateral de sujetos sanos luego de un período de entrenamiento, aunque los resultados son contrarios a los obtenidos a partir de miR-206 circulantes^{46, 47}. Además, se ha descrito que los niveles de miR-146a, cuyos niveles se encuentran disminuidos en pacientes EPOC y que condicionan la inflamación; aumentan significativamente tanto luego de ejercicio agudo como de entrenamiento sostenido^{28, 48}.

A pesar de que los resultados mencionados han sido extraídos de individuos sanos, es posible extraer consi-

deraciones relevantes para la valoración de los miARNs en las adaptaciones mediadas por ejercicio en pacientes EPOC. Así, por ejemplo, miR-146a, miR-1, miR-133 y miR-206 podrían convertirse en *targets* de evaluación en el estudio de las adaptaciones al ejercicio en este tipo de pacientes.

Discusión

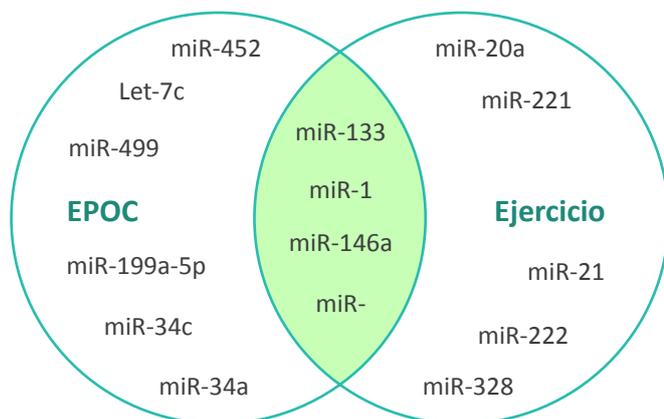
El objetivo de esta revisión consiste en analizar el potencial rol de los miARNs en las adaptaciones inducidas por el ejercicio en pacientes EPOC. Para ello, se resumió el conocimiento actual sobre la biogénesis, función y transporte de los miARNs circulantes. Si bien es cierto, las bases que modulan la expresión de los miARNs aún no son completamente conocidas, existe amplia evidencia que reconoce la desregulación de los miARNs circulantes en patologías humanas⁴⁶. Es importante considerar los criterios que debe cumplir un biomarcador ideal como su especificidad para una patología de interés, su fácil pesquisa en lo posible mediante métodos no invasivos, detección temprana de la patología, sensibilidad ante los cambios en la evolución del cuadro y fácil transferencia desde un modelo animal a uno humano⁹. Los miARNs cumplen con gran parte de estos criterios al encontrarse en fluidos como suero, sangre, secreciones y orina de forma estable y ser tejido-específicos. Actualmente, los métodos de medición de miARNs más utilizados son los basados en microensayos y Reacción en Cadena de Polimerasa cuantitativa (qPCR), aunque existen limitaciones asociadas con el alto costo de utilización, la escasa cantidad de miARNs que es posible extraer de las muestras o la alta dependencia en el diseño de los *primers*⁹. Es por ello, que se proponen protocolos de cuantificación de miARNs que permitan responder a la alta demanda de investigación de este campo con métodos sensibles y confiables⁴⁹.

Por otra parte, el rol de los miARNs en la EPOC da cuenta de su estrecha relación con las alteraciones locales y sistémicas percibidas por los pacientes, además de modular la evolución de la patología y correlacionarse con variables de función pulmonar y rendimiento físico^{25, 27, 29}.

La relación de los miARNs con el ejercicio ha sido estudiada mayormente en sujetos sanos y solo de manera reciente se ha comenzado a relacionar el rol de los miARNs en las adaptaciones mediadas por ejercicio en

envejecimiento o patologías crónicas^{10-12,47}. A la fecha, no se tiene conocimiento de estudios sobre el perfil de expresión de los miARNs en pacientes EPOC luego de ser sometidos a ejercicio físico. Por lo tanto, su análisis solo puede limitarse a la extrapolación de datos a partir de sujetos sanos, relacionando aquéllos miARNs alterados en estos pacientes y que pueden ser susceptibles de modificación por ejercicio. Así, se encontraron coincidencias con miR-146a, miR-1, miR-133 y miR-206 (Figura 1) por lo que futuras investigaciones podrían orientar sus esfuerzos a la valoración de estos miARNs⁴⁵⁻⁴⁹. En cualquier caso, se debe considerar que el tipo, intensidad y duración del ejercicio puede modificar los resultados obtenidos, por lo que es importante definir la modalidad de intervención adecuada.

Figura 1. Coincidencias entre miARNs cuya expresión se desregula en EPOC y en ejercicio.



Conclusión

El estudio de los miARNs constituye una importante fuente de investigación para dar luces sobre la patogénesis de la EPOC y orientar la creación de métodos de pesquisa cada vez más eficientes y oportunos. Además, la exploración del perfil de expresión de miARNs como miR-146a, miR-1, miR-133 y miR-206, en pacientes EPOC luego de ser sometidos a ejercicio físico, contribuiría a la comprensión de los principios que soportan las mejoras percibidas por estos pacientes luego del entrenamiento controlado y con modalidades de ejercicio específicas. Ello constituiría un interesante foco de investigación para la fundamentación de la terapia kinésica desde una perspectiva biológica, contribuyendo a potenciar el conocimiento en torno a las adaptaciones mediadas por el ejercicio en este tipo de pacientes.

Referencias

1. Pauwels R., Rabe K. (2004). Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Lancet*, 364, 613–620.
2. Rabe K., Hurd S., Anzueto A., Barnes P., Buist S., Calverley P., *et al.* (2007). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD Executive Summary. *Am J Respir Crit Care Med*, 176, 532–555.
3. Shapiro S., (2000). Understanding of Underlying Mechanisms of COPD May Reveal Novel Targets Clinics Chest Med, 21, 621-643.
4. Lujambio A., Ropero S., Ballestar E., Fraga M., Cerrato C., Setién F. (2007). Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer Res*, 67(4), 1424–1429.
5. Martinelli R., Nardelli C., Piloni V., Buonomo T., Liquori R., Castano I. (2010). miR-519d Overexpression is associated with human obesity. *Obesity*, 18, 2170–6.
6. Zampetaki A., Kiechl S., Drozdov I., Willeit P., Mayr U., Prokopi M. (2010). Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in Type 2 diabetes. *Circ Res.*,107, 810–7.
7. RC, Feinbaum RL, Ambros V. (1993). The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell*, 75(5), 843–854.
8. MiRBase. www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl
9. Etheridge A., Lee I., Hood L., Galas D., and Wang K. (2011). Extracellular microRNA: a new source of biomarkers. *Mutat Res*. 1, 717(1-2), 85–90.
10. Baggish A., Hale A., Weiner R., Lewis G., Systrom D., Wang F. (2011). Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J Physiol*, 589(16),3983–3994.
11. Neves V., Fernandes T., Roque F., Soci U., Melo S., de Oliveira E. (2014). Exercise training in hypertension: Role of microRNAs *World J Cardiol*, 6(8), 713-727.

12. Lu Y., Wen Jing W., Feng L., Zhang L. (2014). Effects of hypoxic exercise training on microRNA expression and lipid metabolism of obese rat livers. *Bio-med & Biotechnol*, 15(9), 820-829.
13. Cullen B. (2004). Transcription and Processing of Human microRNA Precursors. *Molecular Cell*, 16, 861–865.
14. Baskerville S., Bartel D. (2005) Microarray profiling of microRNAs reveals frequent coexpression with neighboring miRNAs and host genes. *RNA*, 11(3),241-7.
- 15- Lee Y., Kim M., Han J., Yeom K., Lee S, Baek S. *et al* (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J.*, 23, 4051–4060.
16. Borchert G., Lanier W., Davidson B. (2006). RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol.*, 13, 1097–1101.
17. Lee Y., Ahn C., Han J. Choi H., Kim J., Yim J. *et al* (2003). The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature*, 425(6956), 415–9.
18. Lund E., Güttinger S., Calado A., Dahlberg J., Kutay U. (2004). Nuclear export of microRNA precursors. *Science*, 303(5654), 95-8.
19. Kim V. (2005). MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6, 376-385.
20. Barthel D. (2009). MicroRNA Target Recognition and Regulatory Functions. *Cell*; 136(2), 215–233.
21. Lytle J., Yario T., Steitz J. (2007) Target mRNAs are repressed as efficiently by microRNA binding sites in the 5' UTR as in the 3' UTR. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(23), 9667-72.
22. Filipowicz W. Bhattacharyya SN. Sonenberg N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: Are the answers in sight? *Nature Rev. Gen.* 9, 102-114.
23. Wang K., Zhang S., Weber J., Baxter D., Galas D. (2010). Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells. *Nucleic Acids Res.* 38, 7248–7259.
24. Valadi H., Ekström K., Bossios A., Sjöstrand M., Lee J., Lötvall J. (2007). Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells *Nat. Cell Biol.*, 9, 654–659.
25. Van Pottelberge G., Mestdagh P., Bracke K., Thas O., Van Durme Y., Joos G., *et al* (2011). MicroRNA Expression in Induced Sputum of Smokers and Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 183, 898–906.
26. D'hulst A., Bracke K., Maes T., De Bleecker J., Pauwels R., Joos G., *et al* (2006). Role of tumour necrosis factor- α receptor P75 in cigarette smoke-induced pulmonary inflammation and emphysema. *Eur Respir J*, 28, 102–112.
27. Kohyama T., Ertl R., Valenti V., Spurzem J., Kawamoto M., Nakamura Y. (2001). Prostaglandin E2 inhibits fibroblast chemotaxis. *Am J Physiol*, 281, L1257–L1263.
28. Sato T., Liu X., Nelson A., Nakanishi M., Kanaji N., Wang X., *et al.* (2010). Reduced miR-146a increases prostaglandin E in chronic obstructive pulmonary disease fibroblasts. *Am J Respir Crit Care Med.*, 182,1020–9.
29. Savarimuthu F., Davidson M., Tan M., Wright C., Clarke B. Duhic E. (2014). MicroRNA-34c is associated with emphysema severity and modulates SERPINE1 expression. *BMC Genomics*, 15, 88.
30. Wang Z., Bishop E., Burke P. (2011). Expression profile analysis of the inflammatory response regulated by hepatocyte nuclear factor 4 α . *BMC Genomics*, 12, 128.
31. Hautamaki R., Kobayashi D., Senior R., Shapiro S. (1997) Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science*, 277, 2002–2004.
32. Graff J., Powers L., Dickson A., Kim J., Reisetter A., Hassan I. (2012). Cigarette Smoking Decreases Global MicroRNA Expression in Human Alveolar Macrophages. *PLoS ONE*, 7(8), e44066.
33. Yasuo M., Mizuno S., Kraskauskas D., Bogaard H., Natarajan R., Cool C., *et al.* (2011). Hypoxia inducible factor-1 α in human emphysema lung tissue. *Eur Respir J.*, 37 (4), 775 – 783.

34. Hua K., Din J., Cao Q., Feng W., Zhang Y., Yao L., *et al.* (2009) Estrogen and progesterin regulate HIF-1 α expression in ovarian cancer cell lines via the activation of Akt signaling transduction pathway. *Oncol Rep.*, 21(4), 893 - 898.
35. Manalo D., Rowan A., Lavoie T., Natarajan L., Kelly B., Ye S., *et al* (2005). Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood*, 105 (2), 659-669.
36. Mizuno S., Bogaard H., Arroyo J., Alhussaini A., Kraskauskas D., Cool C. (2012). MicroRNA-199a-5p Is Associated With Hypoxia-Inducible Factor-1 α Expression in Lungs From Patients With COPD. *CHEST*, 142(3), 663–672,
37. Donaldson A., Nataneek S., Lewis A., Man W., Hopkinson N., Polkey M., *et al* (2013). Increased skeletal muscle-specific microRNA in the blood of patients with COPD. *Thorax*, 68, 1140–1149.
38. Cai D., Frantz J., Tawa N., Melendez P., Oh B., Lidov H., *et al* (2004). IKK β /NF- κ B activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell*, 119, 285–298.
39. Xiaodong M., Lindsey E., Buscaglia B., Barker, and Li Y. (2011). MicroRNAs in NF- κ B signaling *Journal of Molecular Cell Biology*, 3, 159–166.
40. Lewis A., Riddoch-Contreras J., Nataneek S., Donaldson A., Man W., Moxham J., *et al.* (2012). Down-regulation of the serum response factor/miR-1 axis in the quadriceps of patients with COPD. *Thorax*, 67, 26–34.
41. Doucet M., Russell A., Leger B., Debigaré R., Joannisse D., Caron M., *et al.* (2007). Muscle atrophy and hypertrophy signaling in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 176, 261e9.
42. Novák P., Kružliak J., Bienertová V., Ondrej S. and Miroslav N. (2014). MicroRNA-206: a Promising Theranostic Marker. *Theranostics*, 4(2), 119-133.
43. Van Helvoort H., Heijdra Y., Thijs H., Viña J., Wanten G., Dekhuijzen P. (2006). Exercise-induced systemic effects in muscle-wasted patients with COPD. *Med Sci Sports Exerc*, 38(9), 1543-52.
44. Sin D., Man S. (2006). Skeletal muscle weakness, reduced exercise tolerance, and COPD: is systemic inflammation the missing link? *Thorax*, 61, 1–3.
45. Rao P., Kumar R., Farkhondeh M., Baskerville S., Lodish H. (2006). Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 8721–8726.
46. Nielsen S., Scheele C., Yfanti C., Akerström T., Nielsen A., Pedersen B. *et al* (2010). Muscle specific microRNAs are regulated by endurance exercise in human skeletal muscle *J Physiol*, 588(20), 4029–4037.
47. Mooren F., Viereck J., Krüger K., and Thum T. (2014). Circulating micrornas as potential biomarkers of aerobic exercise capacity m *J Physiol Heart Circ Physiol* 306, H557–H563.
48. Baggish A., Hale A., Weiner R., Lewis G., Systrom D., Wang F. *et al* (2011). Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J Physiol*, 589(16), 3983–3994
49. Mestdagh P., Feys T., Bernard N., Guenther S., Chen C., Speleman F., *et al* (2008). High-throughput stem-loop RT-qPCR miRNA expression profiling using minute amounts of input RNA. *Nucleic Acids Research*, 36, (21).

Correspondencia:

Nombre: Karimé Gonzalez Gajardo
 Teléfonos: + (56 9) 79192803
 E-mail: kgonzalezgajardo@gmail.com