



**Sección de Biología**  
Universidad de La Laguna

**Papel fisiológico de los microARNs en el desarrollo  
follicular ovárico y fecundación en humanos**

**Physiological role of microRNAs in ovarian follicular  
development and human fertilization**

Trabajo de Fin de Grado

**Mariana Andreina Cunha Rodrigues**

Tutorizado por Julio Ávila Marrero y Rita Marleny Martín Ramírez

Grado en Biología

Julio 2023

## ÍNDICE

---

Resumen .....	1
Abstract .....	2
Introducción .....	3
Desarrollo folicular ovárico.....	3
Coordinación entre las células de la granulosa y el ovocito.....	6
Los microARN y su papel en la expresión génica.....	7
Objetivos .....	11
Material y Métodos .....	12
Revisión bibliográfica.....	12
Integración de datos miRNet .....	12
Resultados y discusión .....	13
Resultados de la búsqueda bibliográfica .....	13
MicroARNs en el desarrollo folicular ovárico y esteroidogénesis.....	13
MicroARNs asociados a diagnósticos de infertilidad.....	16
Síndrome de ovario poliquístico .....	16
Endometriosis .....	19
Respuesta ovárica deficiente.....	21
Edad materna avanzada.....	23
Red de interacción microARN-enfermedad reproductiva .....	24
Conclusiones .....	27
Conclusions .....	27
Bibliografía.....	28

## Resumen

Los microARN son moléculas cortas de ARN (~22 nucleótidos) no codificantes que intervienen en la regulación postranscripcional de la expresión génica. Los microARNs están involucrados en la proliferación, apoptosis, función y liberación de hormonas de las células ováricas humanas, en concreto de las células de la granulosa, durante el desarrollo folicular ovárico y la vida reproductiva de las mujeres. El descubrimiento reciente de microARN estables en fluidos corporales plantea la posibilidad de utilizar perfiles de expresión de microARN como nuevos biomarcadores en diagnósticos clínicos mínimamente invasivos. Estos perfiles ofrecen pruebas más sensibles y específicas que las actuales, y permiten la identificación molecular de trastornos reproductivos como el síndrome de ovario poliquístico, la endometriosis, la respuesta ovárica deficiente y la edad materna avanzada. Por ello, se plantea para un futuro disponer de métodos sencillos y rápidos de cuantificación de los microARN, que permita una implantación rutinaria de su utilización en los procedimientos clínicos de reproducción asistida. Las redes de interacción entre los microARNs representan una herramienta eficaz para descubrir nuevos miARNs que podrían desempeñar un papel fisiológico en enfermedades reproductivas no identificadas anteriormente en estudios experimentales.

**Palabras claves:** microARN, ovocito, células de la granulosa, apoptosis, proliferación, esteroidogénesis, PCOS, endometriosis.

## Abstract

MicroRNAs are short non-coding RNA molecules (~22 nucleotides) involved in posttranscriptional regulation of gene expression. MicroRNAs are implicated in the proliferation, apoptosis, function, and hormone release of human ovarian cells, specifically granulosa cells, during ovarian follicular development and women's reproductive lifespan. The recent discovery of stable microRNAs in bodily fluids suggests the potential use of microRNA expression profiles as new biomarkers in minimally invasive clinical diagnostics. These profiles offer more sensitive and specific tests than current ones, enabling molecular identification of reproductive disorders such as polycystic ovary syndrome, endometriosis, poor ovarian response, and advanced maternal age. Therefore, the future development of simple and rapid methods for microRNA quantification is proposed to enable routine implementation in assisted reproductive clinical procedures. Interaction networks among microRNAs serve as an effective tool for discovering new microRNAs that may play a physiological role in reproductive diseases not previously identified in experimental studies.

**Keywords:** microARN, oocyte, granulosa cells, apoptosis, proliferation, steroidogenesis, PCOS, endometriosis.

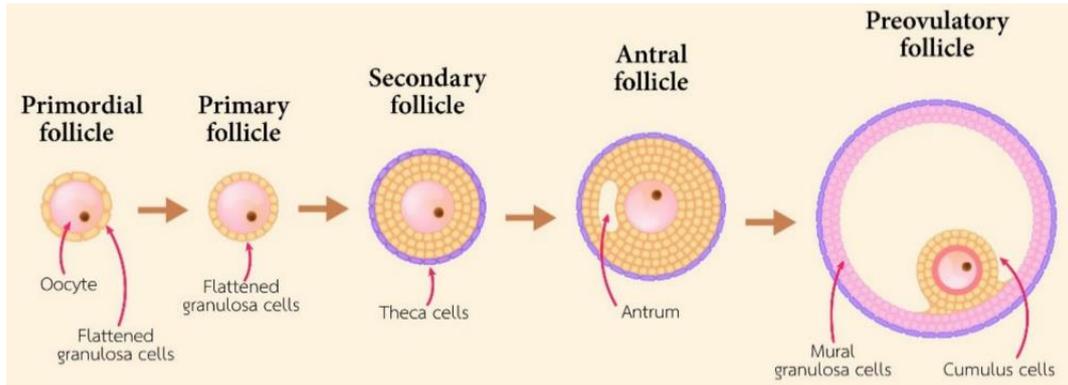
## Introducción

A diferencia de la mayoría de las células del cuerpo, el número de folículos (ovocitos) se determina alrededor del nacimiento y se van agotando de manera gradual y ordenada con la edad, sin renovarse en la edad adulta. El agotamiento de los folículos conduce a la senescencia reproductiva en las hembras de los mamíferos, incluyendo la menopausia en humanos. Como consecuencia, la coordinación entre la formación, el reclutamiento, la activación y el desarrollo de los folículos ováricos es esencial para un ovario funcional y está relacionada directamente con la fertilidad y la vida reproductiva de las mujeres. Un desarrollo anormal en cualquiera de estos procesos puede derivar en enfermedades reproductivas femeninas, disfunción ovárica y/o infertilidad potencial (Maalouf et al., 2016; Zhang y Zhang, 2020).

### Desarrollo folicular ovárico

El ovario es la gónada femenina que actúa como fuente de células germinales y como el principal suministrador de hormonas sexuales esteroideas (Rimon-Dahari et al., 2016). Se trata de un órgano sexual heterogéneo compuesto por ovocitos y diferentes tipos de células somáticas. Tiene dos funciones principales: la producción de hormonas que potencian el sistema reproductor femenino y el control del ciclo menstrual de desarrollo, selección y liberación de un ovocito maduro para la fertilización (Cox y Takov, 2022). La unidad que realiza las funciones relacionadas con el desarrollo de los ovocitos maduros es el folículo, formado por ovocitos y células somáticas foliculares (Gershon y Dekel, 2020; Hsueh et al., 2015; Zhang y Zhang, 2020).

El proceso por el cual un folículo se origina y avanza por distintas etapas de crecimiento hasta formar un folículo preovulatorio o folículo de Graaf es conocido como foliculogénesis ovárica y comienza durante el desarrollo del feto femenino en el útero (Gershon y Dekel, 2020). En él intervienen una amplia variedad de hormonas y factores locales que influyen en la activación de folículos primordiales y contribuyen al desarrollo folicular. Después de la pubertad, los folículos primordiales pueden transformarse a través de un procedimiento multicéntrico en folículos preovulatorios maduros (Aerts y Bols, 2010; Cox y Takov, 2022). El desarrollo folicular (Figura 1) es un proceso preciso y ordenado, coordinado tanto internamente como externamente (Zhang y Zhang, 2020).



**Figura 1. Esquema del desarrollo folicular.** Resumen de los estadios de los folículos a lo largo de su desarrollo y crecimiento. Imagen tomada de Turathum et al. (2021).

En el desarrollo embrionario, las células germinales primordiales (PCG) se diferencian y migran desde el eje dorsal del intestino posterior hacia las crestas genitales en desarrollo, lugar de la futura gónada. Durante su migración, las PCG proliferan rápidamente y van constituyendo estructuras de nidos de células germinales, que resultarán los folículos primordiales (Rimon-Dahari et al., 2016). Cada folículo primordial contiene un ovocito que se encuentra detenido en la primera profase de la meiosis I y rodeado por una capa aplanada de células pre-granulosas somáticas (Zhang y Zhang, 2020), que se diferenciarán para formar células de la granulosa (CG) (Rimon-Dahari et al. 2016). Los tres posibles destinos de desarrollo de los folículos primordiales son: (1) permanecer inactivos durante la vida reproductiva de la hembra; (2) morir durante la latencia; (3) ser seleccionado para continuar el desarrollo folicular (Baerwald et al., 2012; Zhang y Zhang, 2020).

Tras la formación del folículo primordial, este se encuentra en un estado latente hasta que es seleccionado para convertirse en un folículo primario (Zhang y Zhang, 2020). Los folículos primordiales constituyen la reserva folicular ovárica, de la cual solo una población seleccionada se activa para unirse al grupo creciente de folículos. Esta reserva quiescente proporciona a una mujer el potencial reproductivo para toda su vida (Baerwald et al., 2012).

La transición de un folículo primordial a un folículo primario se caracteriza por un cambio morfológico en las CG que pasan de estar aplanadas a ser cúbicas. Los folículos primarios se siguen desarrollando para formar folículos secundarios, que contienen ovocitos en etapas intermedias de crecimiento rodeados por dos o más capas de CG. El ovocito continúa su crecimiento, las CG proliferan y se conforma una capa adicional de células de teca fuera de la membrana basal que rodea al folículo. Estas etapas del crecimiento folicular son independientes de la gonadotropina, pero requieren una compleja comunicación bidireccional entre el ovocito

y las células somáticas. Muchas de las moléculas señalizadoras involucradas en este diálogo pertenecen a la super familia del factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (Baerwald et al., 2012; Gershon y Dekel, 2020; Rimon-Dahari et al. 2016).

Las siguientes etapas son dependientes de las gonadotropinas hipofisarias: la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Abarcan desde el folículo antral temprano hasta la ovulación y regulan directamente los ciclos reproductivos de la hembra (Zhang y Zhang, 2020). Gracias a la acción de la FSH, dentro del folículo secundario se establece una cavidad llena de líquido conocida como el antro, desarrollando así el folículo antral. El antro define dos poblaciones separadas de CG: las células de la granulosa del cúmulo, que están adyacentes al ovocito, y las células de la granulosa mural, que recubren la pared del folículo y sirven como la principal fuente de hormonas esteroideas (Rimon-Dahari et al. 2016).

La FSH es requerida para la supervivencia y proliferación de las CG, producción de estradiol y expresión del receptor de LH. Por otro lado, la LH controla la ovulación (Cox y Takov, 2022; Rimon-Dahari et al. 2016).

La mayoría de los folículos antrales sufrirán una degeneración atrésica, mientras que solo un subconjunto de ellos, los folículos dominantes, continuará desarrollándose hasta la etapa preovulatoria (Hsueh et al., 2015; Rimon-Dahari et al. 2016; Yang et al., 2013). En un ciclo menstrual natural, se seleccionará solo un folículo dominante que continuará hasta la etapa de ovulación (Baerwald et al., 2012; Yang et al., 2013). Las células de la granulosa mural de estos folículos preovulatorios o folículos de Graaf presentan una alta concentración de receptores de LH, lo que les permite responder a la sobrecarga preovulatoria de LH, activando una secuencia de eventos que culminan en la ovulación. Estos eventos incluyen la reanudación meiótica del ovocito, la expansión del cúmulo, la ruptura del folículo y la liberación de un complejo cúmulo-ovocito, cuyo ovocito puede ser fecundado. Una vez que se libera el ovocito, las células restantes de la granulosa y la teca experimentan una diferenciación terminal para crear el cuerpo lúteo (CL) que secreta progesterona necesaria para mantener el embarazo (Hsueh et al., 2015; Rimon-Dahari et al. 2016). Los folículos antrales grandes y los folículos preovulatorios secretan progesterona y estradiol que regulan los cambios cíclicos en el endometrio uterino (Hsueh et al., 2015).

En resumen, los ovocitos se convierten en óvulos maduros y luego sirven como gametos para producir descendencia, mientras que los componentes de las células somáticas, las células de la granulosa y las células de la teca secretan hormonas para participar en el mantenimiento endocrino normal de las hembras (Zhang y Zhang, 2020).

## Coordinación entre las células de la granulosa y el ovocito

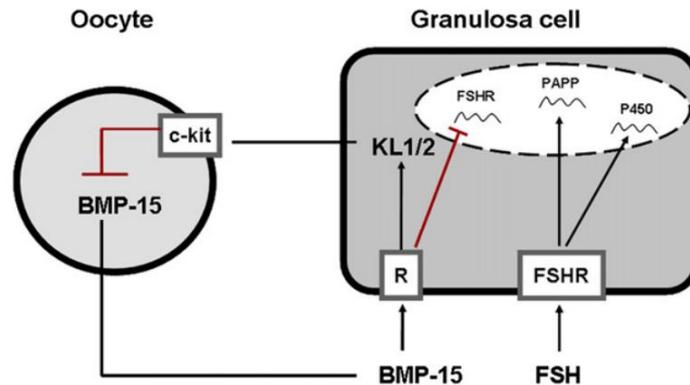
La célula germinal femenina en el folículo está rodeada por células somáticas de la granulosa, que son células especializadas que rodean y acompañan al ovocito, le brindan apoyo y producen hormonas esteroideas (esteroidogénesis). Además, el folículo cuenta con una capa externa de células teca que desempeñan roles cruciales en la síntesis de esteroideas y en la ovulación. Estos compartimentos foliculares funcionan como una unidad fisiológica única cuyo propósito es producir un óvulo saludable que, después de la ovulación, puede ser fertilizado y dar lugar a un embrión, permitiendo así a la célula germinal femenina cumplir su potencial reproductivo. Para que este propósito se produzca, es necesaria las interacciones celulares entre la célula germinal y las CG circundantes (El-Hayek y Clarke, 2016).

Según El-Hayek y Clarke (2016) existen estudios experimentales que han descubierto la existencia de una red de comunicación bidireccional dinámica que conecta las células germinales y somáticas en el nicho folicular, la cual es regulada tanto por contacto directo célula-célula como por señales paracrinas. La comunicación bidireccional entre el ovocito y las células del cúmulo es responsable del desarrollo folicular, la maduración del ovocito, la expansión del cúmulo y la ovulación, y es indispensable para la producción de un ovocito saludable, el cual requiere contacto físico con las CG (Baerwald et al., 2012; El-Hayek y Clarke, 2016; Su et al., 2009; Uyar et al., 2013).

El contacto directo entre los ovocitos y las CG es posible mediante proyecciones transzonales, que son proyecciones citoplasmáticas delgadas que se encuentran en las uniones *gap junctions*, siendo estas uniones físicas cruciales para el desarrollo del ovocito manteniendo la detención meiótica (Brañes et al., 2004; El-Hayek y Clarke, 2016; Liu et al., 2019; Turathum et al., 2021). Por otro lado, los factores paracrinos derivados del ovocito regulan una amplia gama de actividades de las CG (El-Hayek y Clarke, 2016).

A lo largo del crecimiento del folículo ovárico hay varios eventos que constituyen una fuerte evidencia de la presencia de un ciclo regulador de CG y ovocitos en el que señales complementarias y vías metabólicas impulsan el desarrollo y la función tanto de los ovocitos como de los compartimentos somáticos foliculares (Su et al., 2009). Aunque el soporte de las CG al ovocito mediado por uniones *gap junctions* es el más estudiado, estudios sugieren la existencia de circuitos complejos de regulación paracrina, siendo el más estudiado el que controla el proceso de proliferación y diferenciación de las CG conocido como circuito BMP15-KL1/2. Se trata de un circuito de retroalimentación para el sistema de la proteína ósea

morfogenética 15 (BMP-15) y el ligando Kit (KL) en las células granulosas-luteínicas humanas (Figura 2). BMP-15, que se origina del ovocito, estimula la expresión de KL. Una elevada expresión de KL inhibe BMP-15 a través de la retroalimentación. Además, BMP-15 reduce la expresión del receptor de FSH (FSHR), y, como resultado, también disminuyen la expresión de genes regulados por la FSH, como la proteína asociada al embarazo, como la proteína asociada al embarazo (PAPP) y P450 (González-Fernández et al., 2010).



**Figura 2. Esquema de circuito BMP15-KL1/2.** El modelo de retroalimentación de la comunicación paracrina BMP-15-KL1/KL2 entre los ovocitos y las CG. Imagen tomada de González-Fernández et al. (2010).

Más recientemente, se ha observado en estudios realizados que las células de granulosa bovina pueden transferir ARN mensajeros y ARN no codificantes al ovocito que pueden desempeñar un papel regulador dentro del desarrollo folicular (El-Hayek y Clarke, 2016). En este sentido, en los últimos años ha existido un incremento del estudio del posible papel funcional de los microARN en este proceso.

### Los microARN y su papel en la expresión génica

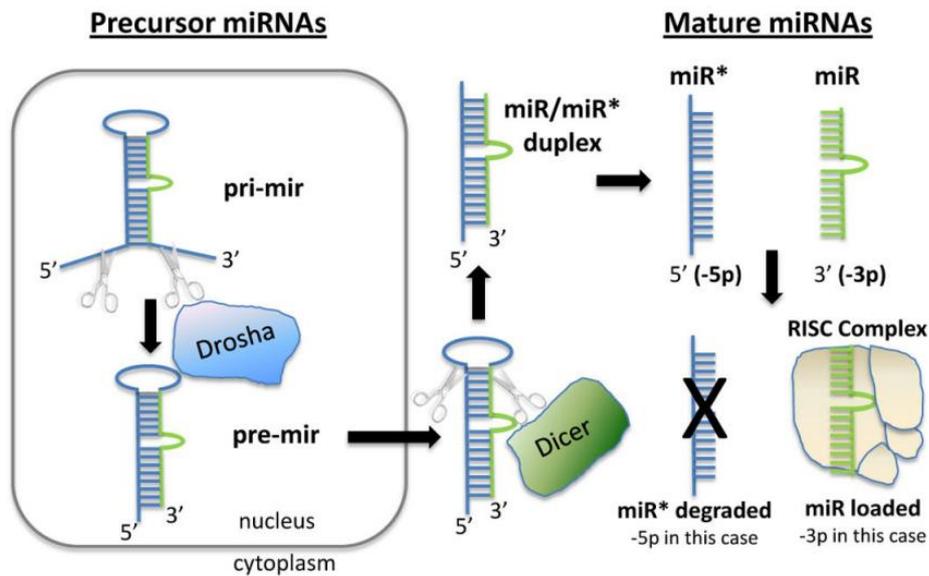
Los microARN (miARN) son moléculas cortas de ARN (~22 nucleótidos) no codificantes que intervienen en la regulación postranscripcional de la expresión génica, generalmente en el silenciamiento de los genes diana (Lu y Rothenberg, 2018), y se expresan de forma órgano-específica. Un solo miARN puede dirigirse a cientos de ARN mensajeros (ARNm) e influir en la expresión de varios genes, dependiendo del tipo de célula y del estadio de diferenciación (Grossman y Shalgi, 2016), a menudo implicados en una vía de interacción funcional (Lu y Rothenberg, 2018). Como consecuencia, los patrones de expresión de miARN pueden presentar mucha información biológica, ya que “la variación en la expresión de cientos

de ARN mensajeros puede, en cierta medida, reflejarse en los patrones de expresión de uno o unos pocos miARN que los regulan” (Pritchard et al., 2012, p. 2).

Cada vez son más populares los perfiles de expresión de miARN porque pueden influir en muchos procesos biológicos, demostrando ser prometedores como biomarcadores de enfermedades (Pritchard et al., 2012) y como agentes terapéuticos de afecciones patológicas (Grossman y Shalgi, 2016; Lu y Rothenberg, 2018). Estos perfiles de expresión de miARN pueden ser utilizados para identificar los miARNs que juegan un papel importante en la regulación de diversos sucesos, como el desarrollo del organismo y el establecimiento y mantenimiento de la diferenciación tisular. Es por ello, que se están usando los biomarcadores de expresión de miARN en el diagnóstico del estado de diferenciación tisular en cánceres con origen desconocido, y se están investigando para reprogramar el destino celular en aplicaciones con células madre (Pritchard et al., 2012). Los perfiles de expresión de miARN difieren entre los estados patológicos y el tejido normal (Mohr y Mott, 2015). Un diseño de estudio muy utilizado implica identificar las diferencias en los perfiles de miARN entre tejidos normales y afectados para encontrar biomarcadores de enfermedades y predecir el pronóstico o la respuesta al tratamiento (Pritchard et al. 2012).

Existen dos subclases distintas de miARN, que se diferencian por su biogénesis: las vías *canónica* y *no canónica* (Grossman y Shalgi, 2016). En esta síntesis intervienen dos proteínas de tipo ARNasa III, Drosha y Dicer, que forman los miARNs a partir de estructuras locales en horquilla (Kim et al., 2009).

Los miARNs canónicos se transcriben en el núcleo a partir de un gen de miARN o intrón a largos transcriptos primarios (pri-miARN) que se pliegan para formar una estructura en horquilla. El complejo Drosha-DCGR8, compuesto por la proteína de unión a ARN de doble cadena DCGR8 (DiGeorge Syndrome Critical Region 8) y por la enzima Drosha, procesa los pri-miARN en miARN precursores de bucle corto (60-70 nt), conocidos como pre-miARN (Grossman y Shalgi, 2016; Pritchard et al., 2012). Los Pre-miARNs son exportados al citoplasma donde son escindidos por Dicer, formando un duplex miARN:miARN\* compuesto por miARN monocatenario derivado de las regiones 5' (5p) y 3' (3p) del precursor. Una vez formado un dúplex de miARN maduro, este se desenrolla, se selecciona una hebra (3p en la Figura 3) y se incorpora a una de las proteínas de la familia Argonauta (AGO) de proteínas de unión a ARN, formando el núcleo del Complejo de Silenciamiento Inducido por ARN (RISC, por sus siglas en inglés). Mientras, la otra hebra pasajera (miR\*) suele degradarse (5p en la Figura 3) (Pritchard et al., 2012).



**Figura 3. Biogénesis de miARN.** Vía canónica de los miARNs. Imagen tomada de Pritchard et al. (2012).

Según describe Grossman y Shalgi (2016) “las vías no canónicas de miARN incluyen vías independientes de Dicer y dependientes de Drosha-DCGR8, así como vías dependientes de Dicer e independientes de Drosha-DCGR8” (Mohr y Mott, 2015).

Pritchard y colaboradores remarcan la importancia de tener en cuenta que se pueden generar distintos miARN a partir de los brazos 3' y 5' del dúplex de pre-miARN (Pritchard et al., 2012), ya que de una única molécula de pre-miARN se pueden producir diferentes especies de miARN maduros (Mohr y Mott, 2015).

Los miARNs actúan en la comunicación celular disminuyendo la expresión de los ARNm que contienen tramos de secuencia complementaria al miARN, siendo su función más compleja de lo que se pensaba inicialmente. El complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) utiliza un miARN para dirigir el reclutamiento específico de secuencia a su ARN diana. La palabra "silenciamiento" en RISC puede dar una impresión errónea ya que actúa más a menudo para amortiguar y ajustar la expresión que para silenciarla por completo. Se ha generalizado que si las interacciones miARN-objetivo tienen alto grado de complementariedad se produce la degradación del ARNm, mientras que si tienen menor complementariedad funcionan a través de la represión traslacional (Mohr y Mott, 2015).

Por lo general, los miARNs no actúan silenciando por completo sus genes diana, sino más bien disminuyendo su expresión. Sin embargo, lo más frecuente es que los miARNs se expresen en múltiples tipos de células y tejidos y tengan diferentes niveles de expresión. En

determinadas condiciones celulares, la unión del miARN al promotor puede incluso aumentar la expresión del gen diana. Incluso, un solo miARN de tener funciones opuestas en diferentes sistemas, lo que hace evidente que la actuación de los miARNs depende del contexto. Un ejemplo es miR-125b que tiene capacidad tanto oncogénica como supresora de tumores en función del tejido/entorno (Mohr y Mott, 2015).

Los miARNs tienen diversas funciones biológicas, tales como el desarrollo, la diferenciación celular, la proliferación, la muerte celular, el control metabólico y la defensa antivírica (Wienholds y Plasterk, 2005). Por ejemplo, miR-21 inhibe la apoptosis, actúa dirigiéndose a múltiples proteínas que conducen a la activación de la caspasa. Otro ejemplo en la señalización por miR-14, cuyos niveles basales en células de *Drosophila* permiten dirigir a una proteína de señalización implicada en el desarrollo, la diferenciación y la proliferación. Estas funciones son posibles gracias a la capacidad que presentan de trabajar juntos para aumentar la represión del gen diana y de comunicarse con otras células o tejidos (Mohr y Mott, 2015).

Grossman y Shalgi (2016) sugirieron que los miARNs desempeñan un papel fundamental en el ensamblaje, crecimiento, diferenciación y ovulación de los folículos. Además, actúan en el control de la función, proliferación y supervivencia de las CG en respuesta a factores intraováricos y extraováricos.

La expresión de los miARNs en el ovario varía con el tipo de célula, la función y la etapa del ciclo reproductivo de la hembra. Están involucrados en la formación de folículos primordiales, reclutamiento y selección folicular, atresia folicular, interacción oocito-célula del cúmulo, función de las CG y luteinización. El estudio de los patrones de expresión y funciones de los miARNs en el ovario permitirán el progreso de nuevas terapias para diagnosticar el origen de la infertilidad, tratar la disfunción ovárica y mejorar la fertilidad (Maalouf et al., 2016).

## Objetivos

El ovario funcional requiere de diferentes acontecimientos para cumplir su función reproductiva, muchos de ellos regulados por la actuación de los miARNs. En base a lo comentado anteriormente, la finalidad del presente trabajo es realizar una revisión en el estudio de los miARNs como marcadores de diagnóstico molecular.

Bajo este propósito, se abordarán como objetivos específicos:

1. Identificar los miARNs que participan en la proliferación, diferenciación y apoptosis durante el desarrollo folicular ovárico y en la esteroidogénesis.
2. Establecer los miARNs cuya expresión génica está asociada a un diagnóstico de infertilidad.
3. Crear una red de interacción entre miARNs y las enfermedades reproductivas vinculadas.

## Material y Métodos

### Revisión bibliográfica

El estudio se ha realizado mediante la recopilación de información sobre el papel de los microARNs como moléculas reguladoras del desarrollo y funcionamiento del ovario. En la ejecución de este trabajo, se ha realizado una búsqueda bibliográfica utilizando la base de datos PubMed desarrollada por el Centro Nacional de Información de Biotecnología (NCBI) y el motor de búsqueda Google Scholar.

Para asegurar la actualización de los datos, se acotó la investigación a la literatura disponible desde 2.009 hasta el presente. La estrategia de búsqueda se fundamentó en el uso de las siguientes palabras claves: “ovarian folliculogenesis”, “granulosa cell oocyte”, “microRNA follicular development”, “microRNA”, “miRNAs human ovary”, “microRNA PCOS”, “endometriosis infertility”, “microRNA endometriosis”, “poor response ivf”, “POR ivf”, “advanced maternal age”, recabando un conjunto de artículos de interés.

Además, se utilizaron los filtros “free full text” y “human” para las búsquedas, y los criterios fueron identificados en el título y/o resumen de las publicaciones, descartando aquellas que no estuvieran relacionadas con el tejido ovárico.

Bajo este método de búsqueda, fueron seleccionadas publicaciones relevantes para la ejecución de este estudio. Diferentes perfiles de expresión de miARNs fueron realizados a partir de los datos recopilados: un perfil asociado al desarrollo folicular ovárico y esteroidogénesis, y otros perfiles de expresión de miARNs asociados a diagnósticos de infertilidad (síndrome de ovario poliquístico, endometriosis, respuesta ovárica deficiente y edad materna avanzada).

### Integración de datos miRNet

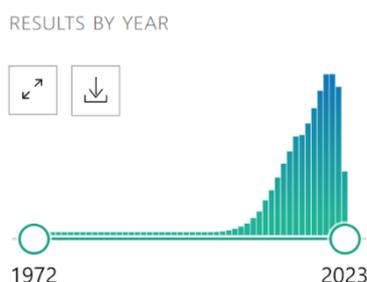
La herramienta MiRNet es una plataforma integrada para investigar las interacciones miARN-diana, compilando información de 14 bases de datos de miARN diferentes (TarBase, miRTarBase, miRecords, miRanda, miR2Disease, HMDD, PhenomiR, SM2miR, PharmacomiR, EpimiR, starBase, TransmiR, ADmiRE, y TAM 2.0).

Mediante el uso de miRNet, se ha creado una red de interacción de miARNs y enfermedades. Para ello, se aportó una lista de 137 miARNs relacionados con el desarrollo folicular ovárico, esteroidogénesis y trastornos reproductivos identificados en la revisión bibliográfica del estudio. Además, se especificó el organismo “H. sapiens (human)”, el tipo de ID “miRBase ID” y el objetivo “diseases”. El algoritmo de red utilizado fue “Force Atlas”.

## Resultados y discusión

### Resultados de la búsqueda bibliográfica

Inicialmente se obtuvieron 157.836 publicaciones relacionadas con los microARNs en diferentes formatos de publicación. En la línea de tiempo de los resultados se puede comprobar como el estudio de estas moléculas ha aumentado exponencialmente en los últimos años, con un notable incremento a partir del año 2010 (Figura 4).



**Figura 4. Gráfico de número de estudios sobre microARNs en los últimos años.** Línea de tiempo de resultados de búsqueda “microRNAs” en la base de datos Pubmed.

Una vez aplicados los filtros de búsqueda comentados anteriormente, los resultados fueron acotados a 57,789 publicaciones que consideran en su estudio a la especie humana. Los artículos seleccionados, en su mayoría, estaban escritos en inglés, excluyendo aquellos escritos en un idioma sin traducciones disponibles para la revisión.

En primer lugar, los títulos fueron revisados para determinar su relevancia para el estudio de la dinámica folicular ovárica. Luego, se buscaron artículos relacionados con los trastornos de fertilidad a tratar. De todos estos, 57 fueron determinados pertinentes y están incluidos en nuestra revisión. Se identificaron artículos adicionales en las bibliografías de los estudios incluidos, así como en un libro de texto en formato digital.

### MicroARNs en el desarrollo folicular ovárico y esteroidogénesis

La proliferación y apoptosis de las células ováricas juegan un papel clave en el desarrollo folicular ovárico, la selección, ovulación y fertilidad; así como también en la caracterización, el desarrollo y el tratamiento de trastornos reproductivos (Sirotkin et al., 2010). Varios estudios han revelado que los miARNs están involucrados en la proliferación, supervivencia, función y/o muerte de las células ováricas humanas, en concreto de las CG. Además, el perfil de expresión de los miARNs también puede reflejar la calidad del óvulo (Sysoeva et al., 2022). Por ello, el tipo celular ovárico más estudiado en cuanto a la regulación por miARN es la célula de granulosa (Maalouf et al., 2016).

Mediante el estudio de la expresión de marcadores de proliferación como PCNA (antígeno nuclear de células en proliferación) y ciclina B1, Sirotkin et al. (2010) identificaron 64 miARNs, de 80 miARNs testados, con un papel regulador en la proliferación de las células ováricas. Once de ellos resultaron ser estimulantes de la proliferación, mientras que 53 miARNs inhibían la expresión de las proteínas asociadas a la proliferación (Sirotkin et al., 2010). Un ejemplo es miR-181a, que inhibe la proliferación de CG al disminuir PCNA (Maalouf et al., 2016). En publicaciones posteriores, se determinó que miR-93 también promovía la proliferación de las CG (Maalouf et al., 2016; Zhang et al., 2019).

Por otra parte, se determinó la presencia del regulador de apoptosis Bax, proteína relacionada con este proceso y usada como marcador de apoptosis. En este caso, 57 miARNs estaban involucrados en el control de la apoptosis, 11 de ellos promovieron la acumulación de Bax, induciendo la apoptosis; mientras que 46 miARNs mostraron ser inhibidores de la apoptosis (Sirotkin et al., 2010). Asimismo, Zhang et al. (2019) revelaron que miR-106a juega un papel en la atresia folicular. Un ejemplo de actuación de los miARNs en la apoptosis es el miR-21, cuya reducción en los ovarios anula el efecto antiapoptótico de la activación de hCG, lo que provoca un aumento de la apoptosis de las CG y una ovulación deteriorada (Maalouf et al., 2016).

En un estudio anterior, Sirotkin et al. (2009) demostraron que los miARNs pueden controlar las funciones reproductivas, lo que resulta en una liberación mejorada o inhibida de progestágeno ovárico, andrógenos y estrógenos. Como resultado, los microARNs son capaces de controlar la esteroidogénesis y la secreción de hormonas de CG (Sirotkin et al. 2010), teniendo un impacto directo en el proceso de atresia folicular (Zhang et al., 2019).

Además, hay una posible implicación de otros miARNs, como miR-125a-3p, en la transición desde los folículos primordiales a los folículos primarios, ya que se expresan diferencialmente durante este suceso (Maalouf et al., 2016).

En la Tabla 1, se observa un listado con las funciones biológicas mencionadas anteriormente relacionadas con los miARNs que las regulan.

Existen un amplio número de miARNs identificados que desempeñan una función importante en las células ováricas, especialmente las CG, en términos de proliferación, apoptosis y liberación de hormonas, lo que tiene un efecto directo en el proceso de atresia folicular. Los estudios han demostrado que los perfiles de miARNs pueden reflejar la calidad del óvulo, que repercute en el ciclo reproductivo de la mujer.

MicroARN	Función	Referencias
miR-7, miR-9, miR-93, miR-105, miR-108, miR-128, miR-132, miR-141, miR-142, miR-152, miR-188, miR-191.	Aumenta proliferación	Grossman y Shalgi, 2016; Maalouf et al., 2016; Sirotkin et al., 2010; Zhang et al., 2019
let-7b, let-7c, let-7d, let-7g, miR-1, miR-10a, miR-15a, miR-16, miR-18, miR-19a, miR-20, miR-21, miR-22, miR-23a, miR-24, miR-25, miR-26a, miR-27a, miR-28, miR-29a, miR-30a-3p, miR-31, miR-32, miR-34a, miR-96, miR-98, miR-99a, miR-100, miR-122, miR-124, miR-125a, miR-125b, miR-128, miR-129, miR-133b, miR-134, miR-136, miR-137, miR-139, miR-140, miR-143, miR-144, miR-145, miR-147, miR-148, miR-149, miR-150, miR-153, miR-155, miR-181a, miR-182, miR-183, miR-187.	Disminuye proliferación	Grossman y Shalgi, 2016; Maalouf et al., 2016; Sirotkin et al., 2010; Zhang et al., 2019
miR-15a, miR-18, miR-25a, miR-29a, miR-32, miR-92, miR-96, miR-124, miR-125a, miR-136, miR-147, miR-183.	Induce apoptosis	Maalouf et al., 2016; Sirotkin et al., 2010;
let-7a, let-7b, let-7c, miR-1, miR-14, miR-17-3p, miR-20, miR-21, miR-22, miR-23a, miR-24, miR-25, miR-26a, miR-30a-3p, miR-31, miR-34a, miR-95, miR-105, miR-107, miR-125b, miR-126, miR-128, miR-129, miR-132, miR-133a, miR-133b, miR-134, miR-135, miR-137, miR-139, miR-140, miR-144, miR-145, miR-148, miR-149, miR-150, miR-151, miR-152, miR-153, miR-155, miR-181a, miR-186, miR-187, miR-190, miR-191	Inhibe apoptosis	Grossman y Shalgi, 2016; Maalouf et al., 2016; Sirotkin et al., 2010
let-7, miR-15a, miR-16, miR-17-5p, miR-23a, miR-23b, miR-27b, miR-34a, miR-125b, miR-132, miR-133b, miR-145, miR-210, miR-211, miR-224, miR-320, miR-378, miR-383, miR-423-5p, miR-513a-3p, miR-542-3p	Regula la esteroidogénesis y los genes relacionados con la esteroidogénesis	Grossman y Shalgi, 2016; Li et al., 2015; Maalouf et al., 2016; Sirotkin et al., 2009

**Tabla 1.** Listado de miARNs y la función que desempeña en el desarrollo folicular ovárico.

Según los resultados de la Tabla 1, se han identificado un total de 82 miARNs que intervienen en el desarrollo folicular ovárico. Se puede observar un mayor número de miARNs con funciones inhibitorias en la proliferación y apoptosis celular, posiblemente relacionadas con el silenciamiento de los genes dianas en la regulación de la expresión génica.

### **MicroARNs asociados a diagnósticos de infertilidad**

El reciente descubrimiento de las moléculas de miARN estables en fluidos corporales hace plantear su uso como nuevos biomarcadores en diagnósticos clínicos de medicina. Los microARNs en suero/plasma tienen un gran potencial como biomarcadores diagnósticos mínimamente invasivos, ofreciendo pruebas más sensibles y específicas que las actualmente disponibles, y permitiendo la fenotipificación molecular de trastornos reproductivos (Imbar y Eisenberg, 2014; Sørensen et al., 2014).

### **Síndrome de ovario poliquístico**

Uno de los trastornos reproductivos más estudiados en el síndrome de ovario poliquístico (PCOS, por sus siglas en inglés). El desarrollo folicular anormal es una característica distintiva del PCOS, caracterizado por ovarios poliquísticos agrandados, sangrado menstrual anormal y un aumento en la producción de andrógenos. Los ovarios de mujeres con PCOS tienen al menos el doble de folículos en crecimiento pre-antral y antral, que no se desarrollan adecuadamente y muchos no progresan y se convierten en estructuras quísticas. Además, los pacientes con PCOS tienen niveles altos de LH, andrógenos e insulina y niveles bajos de FSH, lo que puede causar infertilidad (Baerwald et al., 2012). El PCOS supone un trastorno endocrino complejo y multifactorial que afecta aproximadamente al 5% al 10% de todas las mujeres en edad reproductiva (Sørensen et al., 2014).

Las células de la granulosa del cúmulo que rodean al ovocito están involucradas en diferentes aspectos de la patología del PCOS (Xu et al., 2015). La esteroidogénesis anormal, específicamente, la secreción de andrógenos por el ovario ha sido propuesta como la causa del síndrome de ovario poliquístico (PCOS) (Imbar y Eisenberg, 2014). El líquido folicular presente dentro de los folículos de mujeres PCOS muestra una reducción significativa en la producción de estradiol. Estas bajas concentraciones de estradiol dentro del folículo pueden afectar la maduración de los folículos en desarrollo, lo que favorece la acumulación de folículos antrales pequeños (Chauvin et al., 2022).

La expresión de miARNs en las CG puede regular directamente la expresión de genes específicos implicados en la foliculogénesis y la esteroidogénesis ovárica. La clave está en

conocer cómo los miARNs controlan la liberación de los principales esteroides ováricos: progesterona y estradiol (Imbar y Eisenberg, 2014).

Los miARNs cuya expresión se ve aumentada en mujeres que presentan PCOS se exponen en la Tabla 2 junto a las funciones que desempeñan.

<b>MicroARN</b>	<b>Función</b>	<b>Referencias</b>
miR-9	Inhibe la liberación de testosterona. Incrementa la expresión de PCNA.	Sørensen et al., 2014
miR-18b	Promueve la liberación de progesterona mientras inhibe la liberación de testosterona y estradiol. Disminuye la expresión de PCN y promueve la expresión de Bax.	Sørensen et al., 2014
miR-21	Antiapoptótico. Aumenta la expresión tras la exposición a FSH.	Chen et al., 2019; Sørensen et al., 2014
miR-27b	Interviene en metabolismo hormonal, inflamación, adipogénesis. Correlacionado positivamente con la testosterona.	Sørensen et al., 2014
miR-30c	Aumenta la expresión tras la exposición a FSH.	Sørensen et al., 2014
miR-103	Promueve la liberación de progesterona mientras que inhibe la liberación de estradiol. Interviene en el metabolismo hormonal.	Sørensen et al., 2014
miR-135a	Reduce la liberación de progesterona y testosterona. Disminuye la expresión de Bax.	Sørensen et al., 2014
miR-146a	Reduce la liberación de progesterona, estradiol y testosterona. Asociado negativamente con la testosterona sérica	Chen et al., 2019; Sørensen et al., 2014
miR-155	Inhibe la liberación de testosterona. Disminuye la expresión de PCNA. Disminuye la expresión de Bax.	Sørensen et al., 2014
miR-222	Asociada a diabetes tipo 2. Correlaciona positivamente con insulina del suero. Aumenta la secreción de estradiol.	Chen et al., 2019; Sørensen et al., 2014
miR-224	Induce la proliferación de CG a través de TGF- $\beta$ 1. Incrementa la liberación de estrógenos.	Sørensen et al., 2014
miR-320	Aumenta ante la resistencia de insulina. Desacelera la proliferación celular y la producción de estradiol.	Chen et al., 2019; Sørensen et al., 2014
miR-383	Favorece la liberación de estradiol.	Sørensen et al., 2014
miR-423-3p	Favorece la progresión del tumor dirigiéndose a AdipR2.	Xu et al., 2015

MicroARN	Función	Referencias
miR-3651	Biomarcador potencial del carcinoma de células escamosas de la cavidad oral.	Xu et al., 2015
miR-3653	Asociado con un mayor riesgo de enfermedad metastásica en tumores neuroendocrinos pancreáticos.	Gill et al., 2019; Xu et al., 2015
miR-151b	Biomarcadores pronósticos del linfoma del sistema nervioso central primario.	Xu et al., 2015
miR-1273g-3p	Contribuye a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer mediante la regulación de la expresión de genes mitocondriales.	Kim et al., 2021; Xu et al., 2015
miR-590-5p	Inhibe el crecimiento celular mediante la inhibición dirigida de S100A10.	Xu et al., 2015
miR-3648	Biomarcador para la predicción del pronóstico en el cáncer de pulmón no microcítico y promueve la proliferación de células de cáncer de próstata mediante la inhibición de la poliposis adenomatosa coli 2.	Dong et al., 2022; Xing, 2019; Xu et al., 2015
miR-7845-5p	No se ha descrito aún su función.	Xu et al., 2015
miR-93	Promueve la proliferación celular.	Chen et al., 2019
miR-509-3p	Mejora de la secreción de estradiol.	Chen et al., 2019
miR-122	Relacionado con el glucometabolismo y el desarrollo del folículo ovárico.	Chen et al., 2019
miR-193b	Relacionado con el glucometabolismo y el desarrollo del folículo ovárico.	Chen et al., 2019
miR-194	Relacionado con el glucometabolismo y el desarrollo del folículo ovárico.	Chen et al., 2019
miR-200b	Relacionado con la regulación pituitaria de la ovulación humana.	Chen et al., 2019
miR-429	Relacionado con la regulación pituitaria de la ovulación humana.	Chen et al., 2019

**Tabla 2.** MicroARNs sobreexpresados en presencia de PCOS y su función.

Maalouf et al. (2016) observaron que la sobreexpresión de miR-93, altamente expresado en ovarios poliquísticos humanos, aumenta la proliferación celular en células tumorales de granulosa humana. El patrón de expresión de miR-93 no ha sido descrito en las CG de los ovarios sanos y, por lo tanto, no está claro si su papel en la proliferación de estas células es general o se limita a células en un entorno similar al del PCOS (Maalouf et al., 2016).

En general, muchos de los miARNs mencionados en la Tabla 2 desempeñan diferentes funciones relacionadas con la secreción anormal de hormonas característica del PCOS. A pesar de ser uno de los trastornos reproductivos más estudiados, muchas funciones de miARNs sobreexpresados bajo este diagnóstico no han sido descritas. Es por ello que estos datos solo representan una pequeña parte del panorama general y se necesitan más estudios para comprender completamente el papel de los miARNs en el PCOS.

### Endometriosis

La endometriosis es una enfermedad inflamatoria crónica dependiente del estrógeno que afecta a las mujeres en edad reproductiva, causando infertilidad y dolor pélvico (Sanchez et al., 2017). Se define como la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, específicamente en la cavidad pélvica, aunque esta definición incluye enfermedades asintomáticas y excluye ubicaciones extra-peritoneales (Benagiano et al., 2014; Broi et al., 2019). Esta enfermedad afecta aproximadamente al 6-10% de las mujeres en edad reproductiva y es una causa común de infertilidad femenina (Bjorkman y Taylor, 2019; Dan et al., 2022).

Las posibles causas de la infertilidad relacionada con la endometriosis son la displasia folicular, la reducción en la calidad del ovocito y la interrupción mecánica causada por adherencias pélvicas y quistes ováricos ectópicos en mujeres con endometriosis avanzada. Además, la endometriosis puede reducir la receptividad endometrial, lo que afecta la implantación del embrión y, por ende, la eventual concepción. Aunque las causas exactas aún no se comprenden completamente, múltiples factores parecen estar involucrados, incluyendo disfunciones inmunológicas, hormonales y ováricas, así como inflamación y estrés oxidativo (Bjorkman y Taylor, 2019; Broi et al., 2019; Lin et al., 2020; Tanbo y Fedorcsak, 2017).

Varios miARNs han sido identificados como biomarcadores de esta enfermedad. Como se muestra en la Tabla 3, la expresión de ciertos miARNs juegan un papel en la fisiopatología de la endometriosis, como la proliferación celular, la adhesión, la migración, la invasividad, la señalización inflamatoria o la señalización de estrógenos y progesterona, incluyendo su impacto en la fertilidad (Bjorkman y Taylor, 2019; Dan et al., 2022; Zhang et al., 2019).

<b>MicroARN</b>	<b>Función</b>	<b>Referencias</b>
miR-29c	Implicado en la resistencia a la progesterona. Represión del co-chaperón del receptor de progestina. Disminuye los marcadores de decidualización.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-196a	Implicado en la resistencia a la progesterona. Disminuye las proteínas receptoras de progesterona.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-194-3p	Implicado en la resistencia a la progesterona. Disminuye la expresión de receptores de progesterona en el endometrio. Disminuye la decidualización.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-125b	Regula la señalización de citoquinas inflamatorias. Impacto en la migración celular del desarrollo de la endometriosis.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-145	Inhibe la proliferación celular y la invasividad en las líneas celulares endometriales primarias.	Bjorkman y Taylor, 2019; Teague et al., 2010
miR-199a	Reduce la adhesión, la migración y la invasividad en las líneas celulares endometriales primarias.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-451	Disminuye los factores inhibidores de macrófagos y deteriora la supervivencia celular, lo que los autores sugieren puede representar un mecanismo para limitar la proliferación celular excesiva en lesiones ectópicas.	Bjorkman y Taylor, 2019
miR-138	Disminuye la apoptosis e incrementa la inflamación en las células endoteliales uterinas.	Zhang et al., 2019
miR-135	Promueve la proliferación e invasión de las células estromales del endometrio.	Dan et al., 2022
miR-429	Regula la proliferación, invasión y apoptosis de las células tumorales.	Gu y Zhou, 2021
miR-143-3p	Inhibe la proliferación e invasión de células endometriales del estroma mediante la inactivación de la autofagia.	Teague et al., 2010; Yang et al., 2021
miR-99a	Función en endometriosis desconocida (FED).	Teague et al., 2010
miR-99b	FED	Teague et al., 2010
miR-126	Regula negativamente la expresión de BCAR3 para promover la migración celular y la invasión en la endometriosis.	Meng et al., 2019; Teague et al., 2010
miR-100	Promueve la invasión a través de la atenuación de la expresión de SMARCD en células estromales ováricas.	Teague et al., 2010; Takebayashi et al., 2020
miR-150	FED	Teague et al., 2010

MicroARN	Función	Referencias
miR-125a	FED	Teague et al., 2010
miR-223	Reduce la capacidad de invasión y migración de células estromales eutópicas y ectópicas del endometrio.	Teague et al., 2010; Xue et al., 2022
miR-194	Regula la vía de señalización STAT1/mTOR de las células endometriales ectópicas de ratones.	Teague et al., 2010; Zhao et al., 2020
miR-365	FED	Teague et al., 2010
miR-142-3p	Suprime la endometriosis mediante la regulación de la autofagia mediada por KLF9.	Ma et al., 2019; Teague et al., 2010
miR-1	FED	Teague et al., 2010

**Tabla 3.** MicroARNs implicados en la endometriosis y su función.

Se ha demostrado que la desregulación de los miARN afecta varias vías biológicas en relación con la endometriosis. La proliferación celular es la vía más comúnmente afectada, pero también se ven afectadas otras vías como la apoptosis, la angiogénesis, la adhesión celular, la invasión o migración de las células endometriales, la producción de citoquinas inflamatorias y la señalización de hormonas esteroides, como la señalización de estrógenos o la resistencia a la progesterona.

La resistencia a la progesterona es especialmente importante para la fertilidad, ya que la progesterona induce la decidualización de las células endometriales que se requiere para un embarazo normal y esta resistencia se asocia a un fallo de regulación de los reguladores del ciclo celular, una mayor proliferación celular y un estado proinflamatorio en el endometrio (Bjorkman y Taylor, 2019).

### Respuesta ovárica deficiente

En los ciclos de fecundación in vitro (FIV) o inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) el número recogido de ovocitos está por debajo del valor esperado a pesar de la estimulación ovárica llevada a cabo. Esto se debe a la presencia de una respuesta ovárica deficiente (POR, por sus siglas en inglés) a la estimulación y es uno de los campos más desafiantes en la medicina reproductiva (Busnelli y Somigliana, 2018; Özkan, 2019).

La respuesta ovárica deficiente (POR) puede ser una señal temprana de envejecimiento ovárico y de una reducción en la reserva ovárica. Es una condición caracterizada por una disminución del número de folículos y niveles bajos de estradiol después de la estimulación ovárica controlada durante los procedimientos de fecundación in vitro y transferencia de embriones (Luo y Sun, 2023).

En el estudio realizado por Luo et al. (2019) se recuperaron ovocitos de pacientes sometidas a FIV que cumplían con los criterios de un POR: (i) una edad materna avanzada ( $\geq 40$  años) u otro factor de riesgo para una reserva ovárica deficiente (POR); (ii) una POR previa ( $\leq 3$  ovocitos en un protocolo de estimulación convencional); o (iii) una prueba de reserva ovárica anormal (por ejemplo, un recuento de folículos antrales de 5-7 folículos). En la Tabla 4 se recogen los resultados recogidos en el estudio anterior, además de incluir los miARNs recopilados en la búsqueda bibliográfica realizada por Luo y Sun (2023).

MicroARN	Función	Referencias
miR-15a-5p	Suprime la apoptosis de CG.	Luo y Sun, 2023
miR-23a	Promueve la apoptosis de CG.	Luo y Sun, 2023
miR-21-5p	Suprime la apoptosis de CG y la maduración de los ovocitos. Mejora la producción de estradiol e induce la proliferación celular.	Luo y Sun, 2023
miR-146a	Promueve la apoptosis de CG.	Luo et al., 2019; Luo y Sun, 2023
miR-122-5p	Promueve la apoptosis de CG.	Luo et al., 2019; Luo y Sun, 2023
miR-133a-3p	Función en POR desconocida (FPD).	Luo et al., 2019; Luo y Sun, 2023
miR-27a	FPD	Luo et al., 2019
miR-654-5p	FPD	Luo et al., 2019
miR-184	FPD	Luo et al., 2019
miR-3614-5p	FPD	Luo et al., 2019
miR-431-3p	FPD	Luo et al., 2019
miR-380-5p	FPD	Luo et al., 2019
miR-542-3p	FPD	Luo et al., 2019

**Tabla 4.** MicroARNs sobreexpresados en presencia de POR y su función.

Atendiendo a los datos de la tabla 4 la mayor parte de los miARNs mencionados desempeñan un papel importante en la regulación de la apoptosis. Mientras que miR-15a-5p y miR-21-5p tienen un efecto supresor sobre la apoptosis y pueden tener un impacto positivo en la preservación de los ovocitos, miR-23a, miR-146a y miR-122-5p promueven la apoptosis y podrían tener un efecto negativo en la reserva ovárica. Estos hallazgos sugieren que los microARNs desempeñan un papel clave en la función de los ovocitos en la reserva ovárica.

### Edad materna avanzada

La edad materna avanzada (AMA), que se define consistentemente como  $\geq 35$  años, se ha convertido en un problema crítico de salud pública. El deterioro natural de la capacidad reproductiva femenina, especialmente en mujeres de AMA, tiene principalmente dos causas: 1) un progresivo agotamiento del número de ovocitos en el ovario; y 2) una disminución de la calidad de los ovocitos relacionada con la edad. La disminución progresiva en la cantidad de óvulos en los folículos ováricos en mujeres de AMA asegura que estas tengan menos óvulos en sus ovarios, los cuales también presentan una calidad disminuida y mayor predisposición a anomalías cromosómicas y meióticas (Attali y Yogev, 2021; Seshadri et al., 2021).

El perfil de miARN en el líquido folicular de mujeres de edad avanzada difiere del perfil de miARN en mujeres jóvenes. Se ha demostrado que la expresión de miARN en las vesículas extracelulares del líquido folicular se correlaciona con la tasa de fertilización y la calidad embrionaria. En el trabajo realizado por Sysoeva et al. (2022) se eligieron 6 miARNs (miR-21-5p, miR-888-5p, miR-424-3p, miR-214-3p, miR-190b-5p y miR-134-5p), que, según diferentes autores están asociados con cambios relacionados con la edad en el sistema reproductivo femenino. Los resultados del estudio muestran que la expresión de miR-134-5p y miR-21-5p fue significativamente mayor en las mujeres de edad avanzada con fallo recurrente de implantación en comparación con las mujeres jóvenes con su primer intento de FIV (Sysoeva et al., 2022).

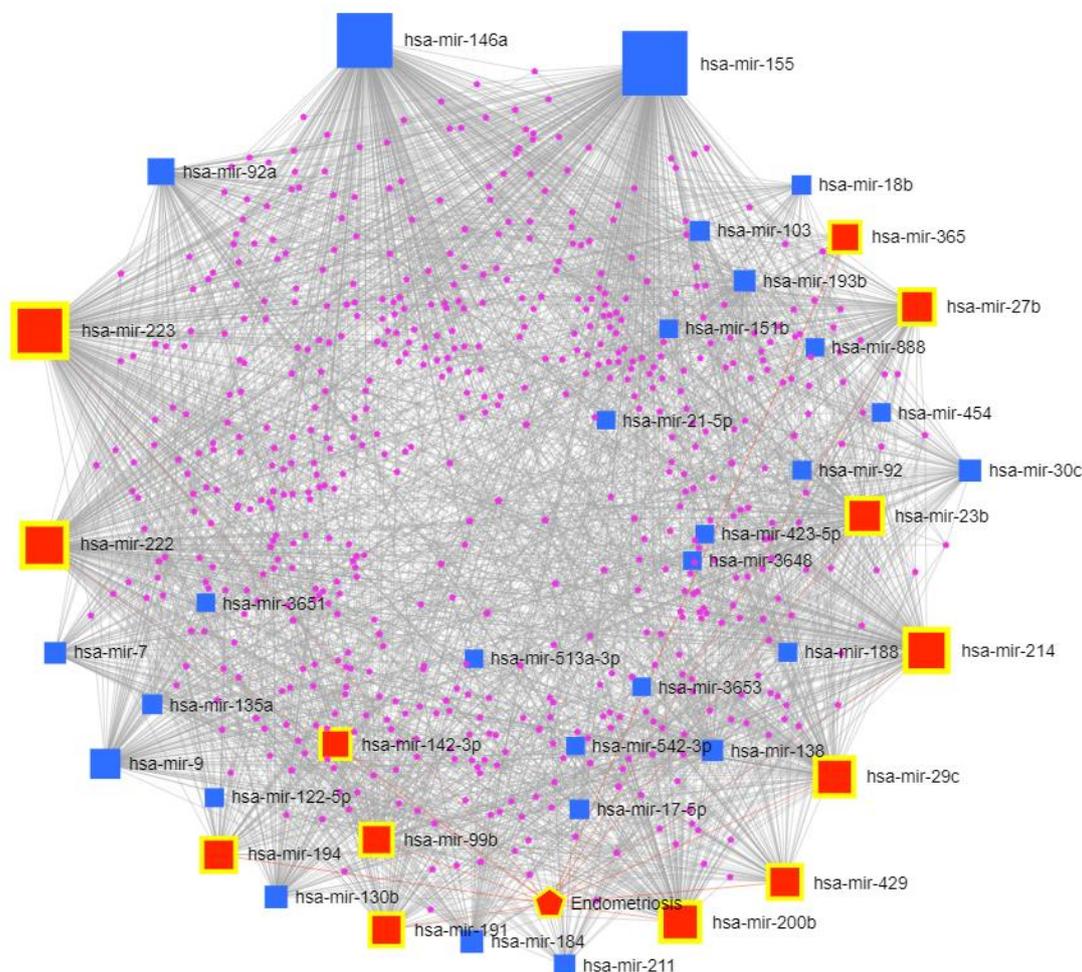
El perfil de expresión de cuatro miARNs en el líquido folicular de mujeres jóvenes ( $< 31$  años) y mujeres de edad avanzada ( $> 38$  años) mostró que miR-21-5p estaba presente en niveles significativamente más altos en mujeres jóvenes, mientras que se observaron miR-99b, miR-134 y miR-190b en el líquido folicular de mujeres de edad avanzada (Sysoeva et al., 2022).

El miR-190b juega un papel importante en la regulación de la expresión de proteoglicanos de sulfato de heparano en folículos periovulatorios y también puede contribuir al metabolismo anormal de la glucosa en los folículos de mujeres de edad avanzada. Mientras que miR-21-5p se considera un factor antiapoptótico. Los altos niveles de apoptosis de las CG en mujeres de edad avanzada pueden estar asociados con la disminución de miR-21-5p en combinación con niveles más altos de miR-134 (Sysoeva et al., 2022).

La AMA está asociada con una disminución en la fertilidad debido a la disminución de la reserva ovárica y la calidad de los óvulos. Cabe destacar la importancia de que las mujeres sean conscientes de estos factores y busquen asesoramiento médico en técnicas de reproducción asistida si desean concebir en edades más avanzadas.



Por otra parte, la interacción entre miARNs y la enfermedad de endometriosis (Figura 6) ha aportado, de los 13 miARNs resultantes, 6 miARNs (miR-23b, miR-27b, miR-191, miR-200b, miR-214, miR-222) vinculados a la endometriosis que no se habían considerado en la revisión bibliográfica.



**Figura 6. Red de interacción miARN-enfermedades.** Se destaca la interacción miARN-endometriosis en color rojo. Obtenido a partir del programa MiRNet.

Si se analizan las interacciones entre los miARNs y las enfermedades PCOS y endometriosis, se visualizan miARNs que coinciden en la intervención de ambas enfermedades. Los miARNs en cuestión son miR-223, miR-194, miR-23b y miR-27b, que desarrollan funciones tanto en la esteroidogénesis como en el desarrollo y proliferación del folículo ovárico mencionadas en las tablas anteriores.

La complejidad de cómo los miARNs interactúan, regulan y se expresan supone desafíos para el estudio de su función. Para entender cómo actúan en la función ovárica se necesita comprender la red completa de interacciones entre los miARN y sus objetivos, considerando el contexto hormonal y los factores de crecimiento que rigen el desarrollo y función del ovario.

Comprender mejor el papel de los miARNs en el ovario podría tener un gran impacto en la salud reproductiva, ayudando a un diagnóstico más rápido de trastornos en la reproducción, mejorando la calidad y supervivencia de los embriones durante la reproducción asistida y diseñando nuevos métodos anticonceptivos.

En este sentido, no solo es importante poder identificar marcadores moleculares de este proceso, sino también poder disponer de métodos sencillos y rápidos de cuantificación de los mismos, que permita una implantación rutinaria de su utilización en los procedimientos clínicos de reproducción asistida. La ventaja que proporciona las moléculas de miARNs como marcadores moleculares reside en que podrían estar disponibles pruebas de diagnóstico económicas en un futuro cercano, ya que se ha demostrado que los miARNs son estables en muestras como la sangre seca en papel de filtro y existen métodos de amplificación isotérmica para miARN. También se están desarrollando técnicas de medición de miARN basadas en nanoporos que, si se perfeccionan, podrían permitir pruebas de miARN simples, rápidas y muy sensibles, allanando el camino para perfiles de miARN ampliamente disponibles en pruebas clínicas (Pritchard et al., 2012).

## Conclusiones

1. Los microARNs están involucrados en la proliferación, apoptosis, función y liberación de hormonas de las células ováricas humanas, en concreto de las células de la granulosa, durante el desarrollo folicular ovárico y la vida reproductiva de las mujeres.
2. En este estudio se identificó un total de 137 microARNs relacionados con el desarrollo y función ovárica: 30 de ellos intervienen en el síndrome de ovario poliquístico, 282 están relacionados con la endometriosis, 13 se sobreexpresan en condiciones de respuesta ovárica deficiente y 8 se vinculan a la edad materna avanzada.
3. El perfil de expresión de microARNs para los diferentes trastornos reproductivos sirven como marcadores moleculares de diagnósticos de fertilidad.
4. El uso de la herramienta MiRNet ha permitido establecer nuevas relaciones de miARNs con las patologías PCOS y con endometriosis a partir de los datos de expresión de miARNs publicados por diferentes grupos de investigación.
5. Las redes de interacción entre los microARNs constituyen una herramienta efectiva para la identificación de miARNs con un posible papel fisiológico en enfermedades reproductivas no detectados previamente de forma experimental.

## Conclusions

1. MicroRNAs are involved in the proliferation, apoptosis, function, and hormone release of human ovarian cells, specifically granulosa cells, during ovarian follicular development and women's reproductive life.
2. In this study, a total of 137 microRNAs related to ovarian development and function were identified: 30 of them are involved in polycystic ovary syndrome, 28 are related to endometriosis, 13 are overexpressed in poor ovarian response conditions, and 8 are linked to advanced maternal age.
3. The microRNA expression profile for different reproductive disorders serves as molecular diagnostic markers for fertility.
4. The use of MiRNet tool has allowed establishing new relationships of miRNAs with PCOS and endometriosis pathologies based on miRNA expression data published by different research groups.
5. The interaction networks among microRNAs constitute an effective tool for the identification of miRNAs with a potential physiological role in reproductive diseases that were not previously detected experimentally.

## Bibliografía

- Aerts, J. M., y Bols, P. E. (2010). Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development. *Reproduction in domestic animals*, 45(1), 171–179. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01302.x>
- Attali, E., y Yogeve, Y. (2021). The impact of advanced maternal age on pregnancy outcome. *Best practice y research. Clinical obstetrics y gynaecology*, 70, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.06.006>
- Baerwald, A. R., Adams, G. P., y Pierson, R. A. (2012). Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. *Human reproduction update*, 18(1), 73–91. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmr039>
- Benagiano, G., Brosens, I., y Habiba, M. (2014). Structural and molecular features of the endomyometrium in endometriosis and adenomyosis. *Human reproduction update*, 20(3), 386–402. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmt052>
- Bjorkman, S., y Taylor, H. S. (2019). MicroRNAs in endometriosis: biological function and emerging biomarker candidates. *Biology of reproduction*, 100(5), 1135–1146. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz014>
- Brañes, M. C., Sáez, A., Villalón, M. J., y Sáez, J. C. (2004). Uniones en hendidura y su papel funcional en el tracto reproductor femenino. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 69(1), 60–66.
- Broi, M. G., Ferriani, R. A., y Navarro, P. A. (2019). Ethio-pathogenic mechanisms of endometriosis-related infertility. *JBRA assisted reproduction*, 23(3), 273–280. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190029>
- Busnelli, A., y Somigliana, E. (2018). Prognosis and cost-effectiveness of IVF in poor responders according to the Bologna Criteria. *Minerva ginecologica*, 70(1), 89–98. <https://doi.org/10.23736/S0026-4784.17.04132-6>
- Chauvin, S., Cohen-Tannoudji, J., y Guigon, C. J. (2022). Estradiol Signaling at the Heart of Folliculogenesis: Its Potential Deregulation in Human Ovarian Pathologies. *International journal of molecular sciences*, 23(1), 512. <https://doi.org/10.3390/ijms23010512>
- Chen, B., Xu, P., Wang, J., y Zhang, C. (2019). The role of MiRNA in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gene*, 706, 91–96. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.04.082>
- Cox, E., y Takov, V. (2022). Embryology, Ovarian Follicle Development. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Dan, W., En Jing, Z., Juan, J., Yi, Y., y Yi Ling, J. (2022). Rhein inhibits endometriosis by targeting microRNA-135. *Acta biochimica Polonica*, 69(3), 593–597. [https://doi.org/10.18388/abp.2020\\_5935](https://doi.org/10.18388/abp.2020_5935)
- Dong, Y., Wu, B., Wang, X., Lu, F., Li, Q., y Zhao, Q. (2022). High miR-3648 expression and low APC2 expression are associated with shorter survival and tumor progression in NSCLC. *Histology and histopathology*, 37(4), 355–364. <https://doi.org/10.14670/HH-18-411>
- El-Hayek, S., y Clarke, H. J. (2016). Control of Oocyte Growth and Development by Intercellular Communication Within the Follicular Niche. *Results and problems in cell differentiation*, 58, 191–224. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5_8)
- Gershon, E., y Dekel, N. (2020). Newly Identified Regulators of Ovarian Folliculogenesis and Ovulation. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4565. <https://doi.org/10.3390/ijms21124565>
- Gill, P., Kim, E., Chua, T. C., Clifton-Bligh, R. J., Nahm, C. B., Mittal, A., Gill, A. J., y Samra, J. S. (2019). MiRNA-3653 Is a Potential Tissue Biomarker for Increased Metastatic Risk in Pancreatic Neuroendocrine Tumours. *Endocrine pathology*, 30(2), 128–133. <https://doi.org/10.1007/s12022-019-9570-y>
- González-Fernández, R., Peña, O., Hernández, J., Martín-Vasallo, P., Palumbo, A., y Avila, J. (2010). FSH receptor, KL1/2, P450, and PAPP genes in granulosa-lutein cells from in vitro fertilization patients show a different expression pattern depending on the infertility diagnosis. *Fertility and sterility*, 94(1), 99–104. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.02.074>
- Grossman, H., y Shalgi, R. (2016). A Role of MicroRNAs in Cell Differentiation During Gonad Development. *Results and problems in cell differentiation*, 58, 309–336. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5_12)
- Gu, Y., y Zhou, Z. (2021). Berberine inhibits the proliferation, invasion and migration of endometrial stromal cells by downregulating miR-429. *Molecular medicine reports*, 23(6), 416. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.12055>
- Hsueh, A. J., Kawamura, K., Cheng, Y., y Fauser, B. C. (2015). Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocrine reviews*, 36(1), 1–24. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1020>

- Imbar, T., y Eisenberg, I. (2014). Regulatory role of microRNAs in ovarian function. *Fertility and sterility*, *101*(6), 1524–1530. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.04.024>
- Kim, S. H., Choi, K. Y., Park, Y., McLean, C., Park, J., Lee, J. H., Lee, K. H., Kim, B. C., Huh, Y. H., Lee, K. H., y Song, W. K. (2021). Enhanced Expression of microRNA-1273g-3p Contributes to Alzheimer's Disease Pathogenesis by Regulating the Expression of Mitochondrial Genes. *Cells*, *10*(10), 2697. <https://doi.org/10.3390/cells10102697>
- Kim, V. N., Han, J., y Siomi, M. C. (2009). Biogenesis of small RNAs in animals. *Nature reviews. Molecular cell biology*, *10*(2), 126–139. <https://doi.org/10.1038/nrm2632>
- Li, Y., Fang, Y., Liu, Y., & Yang, X. (2015). MicroRNAs in ovarian function and disorders. *Journal of ovarian research*, *8*, 51. <https://doi.org/10.1186/s13048-015-0162-2>
- Lin, X., Dai, Y., Tong, X., Xu, W., Huang, Q., Jin, X., Li, C., Zhou, F., Zhou, H., Lin, X., Huang, D., y Zhang, S. (2020). Excessive oxidative stress in cumulus granulosa cells induced cell senescence contributes to endometriosis-associated infertility. *Redox biology*, *30*, 101431. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101431>
- Liu, Y. X., Zhang, Y., Li, Y. Y., Liu, X. M., Wang, X. X., Zhang, C. L., Hao, C. F., y Deng, S. L. (2019). Regulation of follicular development and differentiation by intra-ovarian factors and endocrine hormones. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, *24*(5), 983–993. <https://doi.org/10.2741/4763>
- Lu, T. X., y Rothenberg, M. E. (2018). MicroRNA. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *141*(4), 1202–1207. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.08.034>
- Luo, H., Han, Y., Liu, J., y Zhang, Y. (2019). Identification of microRNAs in granulosa cells from patients with different levels of ovarian reserve function and the potential regulatory function of miR-23a in granulosa cell apoptosis. *Gene*, *686*, 250–260. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.11.025>
- Luo, J., y Sun, Z. (2023). MicroRNAs in POI, DOR and POR. *Archives of gynecology and obstetrics*, *10.1007/s00404-023-06922-z*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s00404-023-06922-z>
- Ma, L., Li, Z., Li, W., Ai, J., & Chen, X. (2019). MicroRNA-142-3p suppresses endometriosis by regulating KLF9-mediated autophagy *in vitro* and *in vivo*. *RNA biology*, *16*(12), 1733–1748. <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1657352>
- Maalouf, S. W., Liu, W. S., y Pate, J. L. (2016). MicroRNA in ovarian function. *Cell and tissue research*, *363*(1), 7–18. <https://doi.org/10.1007/s00441-015-2307-4>
- Meng, X., Liu, J., Wang, H., Chen, P., y Wang, D. (2019). MicroRNA-126-5p downregulates BCAR3 expression to promote cell migration and invasion in endometriosis. *Molecular and cellular endocrinology*, *494*, 110486. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110486>
- Mohr, A. M., y Mott, J. L. (2015). Overview of microRNA biology. *Seminars in liver disease*, *35*(1), 3–11. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1397344>
- Özkan Z. S. (2019). Ovarian stimulation modalities in poor responders. *Turkish journal of medical sciences*, *49*(4), 959–962. <https://doi.org/10.3906/sag-1905-179>
- Pritchard, C. C., Cheng, H. H., y Tewari, M. (2012). MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nature reviews. Genetics*, *13*(5), 358–369. <https://doi.org/10.1038/nrg3198>
- Rimon-Dahari, N., Yerushalmi-Heinemann, L., Alyagor, L., y Dekel, N. (2016). Ovarian Folliculogenesis. *Results and problems in cell differentiation*, *58*, 167–190. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31973-5_7)
- Sanchez, A. M., Vanni, V. S., Bartiromo, L., Papaleo, E., Zilberberg, E., Candiani, M., Orvieto, R., y Viganò, P. (2017). Is the oocyte quality affected by endometriosis? A review of the literature. *Journal of ovarian research*, *10*(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s13048-017-0341-4>
- Seshadri, S., Morris, G., Serhal, P., y Saab, W. (2021). Assisted conception in women of advanced maternal age. *Best practice y research. Clinical obstetrics y gynaecology*, *70*, 10–20. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2020.06.012>
- Sirotkin, A. V., Lauková, M., Ovcharenko, D., Brenaut, P., y Mlynec, M. (2010). Identification of microRNAs controlling human ovarian cell proliferation and apoptosis. *Journal of cellular physiology*, *223*(1), 49–56. <https://doi.org/10.1002/jcp.21999>
- Sirotkin, A. V., Ovcharenko, D., Grossmann, R., Lauková, M., y Mlynec, M. (2009). Identification of microRNAs controlling human ovarian cell steroidogenesis via a genome-scale screen. *Journal of cellular physiology*, *219*(2), 415–420. <https://doi.org/10.1002/jcp.21689>

- Sørensen, A. E., Wissing, M. L., Salö, S., Englund, A. L., y Dalgaard, L. T. (2014). MicroRNAs Related to Polycystic Ovary Syndrome (PCOS). *Genes*, 5(3), 684–708. <https://doi.org/10.3390/genes5030684>
- Su, Y. Q., Sugiura, K., y Eppig, J. J. (2009). Mouse oocyte control of granulosa cell development and function: paracrine regulation of cumulus cell metabolism. *Seminars in reproductive medicine*, 27(1), 32–42. <https://doi.org/10.1055/s-0028-1108008>
- Sysoeva, A. P., Nepsha, O. S., Makarova, N. P., Silachev, D. N., Lobanova, N. N., Timofeeva, A. V., Shevtsova, Y. A., Bragina, E. E., y Kalinina, E. A. (2022). Influence of Extracellular Vesicles from the Follicular Fluid of Young Women and Women of Advanced Maternal Age with Different miRNA Profiles on Sperm Functional Properties. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 173(4), 560–568. <https://doi.org/10.1007/s10517-022-05589-x>
- Takebayashi, K., Nasu, K., Okamoto, M., Aoyagi, Y., Hirakawa, T., & Narahara, H. (2020). hsa-miR-100-5p, an overexpressed miRNA in human ovarian endometriotic stromal cells, promotes invasion through attenuation of SMARCD1 expression. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 18(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12958-020-00590-3>
- Tanbo, T., y Fedorcsak, P. (2017). Endometriosis-associated infertility: aspects of pathophysiological mechanisms and treatment options. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*, 96(6), 659–667. <https://doi.org/10.1111/aogs.13082>
- Teague, E. M., Print, C. G., & Hull, M. L. (2010). The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions. *Human reproduction update*, 16(2), 142–165. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp034>
- Turathum, B., Gao, E. M., y Chian, R. C. (2021). The Function of Cumulus Cells in Oocyte Growth and Maturation and in Subsequent Ovulation and Fertilization. *Cells*, 10(9), 2292. <https://doi.org/10.3390/cells10092292>
- Uyar, A., Torrealday, S., y Seli, E. (2013). Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality. *Fertility and sterility*, 99(4), 979–997. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.01.129>
- Wienholds, E., y Plasterk, R. H. (2005). MicroRNA function in animal development. *FEBS letters*, 579(26), 5911–5922. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.07.070>
- Xing R. (2019). miR-3648 Promotes Prostate Cancer Cell Proliferation by Inhibiting Adenomatous Polyposis Coli 2. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 19(12), 7526–7531. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16413>
- Xu, B., Zhang, Y. W., Tong, X. H., y Liu, Y. S. (2015). Characterization of microRNA profile in human cumulus granulosa cells: Identification of microRNAs that regulate Notch signaling and are associated with PCOS. *Molecular and cellular endocrinology*, 404, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.01.030>
- Xue, Y., Lin, X., Shi, T., y Tian, Y. (2022). miRNA-223 expression in patient-derived eutopic and ectopic endometrial stromal cells and its effect on epithelial-to-mesenchymal transition in endometriosis. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 77, 100112. <https://doi.org/10.1016/j.clinsp.2022.100112>
- Yang, D. Z., Yang, W., Li, Y., y He, Z. (2013). Progress in understanding human ovarian folliculogenesis and its implications in assisted reproduction. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 30(2), 213–219. <https://doi.org/10.1007/s10815-013-9944-x>
- Yang, H., Hu, T., Hu, P., Qi, C., & Qian, L. (2021). miR-143-3p inhibits endometriotic stromal cell proliferation and invasion by inactivating autophagy in endometriosis. *Molecular medicine reports*, 23(5), 356. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11995>
- Zhang, J., Xu, Y., Liu, H., y Pan, Z. (2019). MicroRNAs in ovarian follicular atresia and granulosa cell apoptosis. *Reproductive biology and endocrinology: RByE*, 17(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12958-018-0450-y>
- Zhang, Y., y Zhang, H. (2020). *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*, 72(1), 63–74.
- Zhao, Q., Han, B., Zhang, Y., Su, K., Wang, C., Hai, P., Bian, A., y Guo, R. (2020). Effect of miR-194-5p regulating STAT1/mTOR signaling pathway on the biological characteristics of ectopic endometrial cells from mice. *American journal of translational research*, 12(10), 6136–6148.