



**Facultad de Farmacia**  
Universidad de La Laguna

# Trabajo de Fin de Grado

Grado en Farmacia

Curso 2023/24

## Nanolígómeros dirigidos a miARNs para el tratamiento de COVID-19

Andrea María Alonso Caradonna

Directores:

Alexis Oliva Martín

Aída ELizabeth Córdoba Lanús

# Índice

---

Índice .....	2
Resumen .....	3
Abstract .....	3
Introducción .....	4
Objetivos.....	5
Metodología .....	5
Resultados y discusión .....	6
COVID-19 y SARS-CoV-2 .....	6
MicroARNs en el diagnóstico y progresión de la COVID-19 .....	8
MicroARNs en el tratamiento de la COVID-19 .....	9
Terapias basadas en oligonucleótidos antisentido (ASO) .....	10
ASOs dirigidos a miARNs mediante nanotecnología .....	12
Conclusiones .....	14
Bibliografía .....	14

## Resumen

---

La pandemia de COVID-19 ha puesto de manifiesto la necesidad de desarrollar tratamientos antivirales contra el SARS-CoV-2 adecuados. En la actualidad, sigue habiendo repuntes de casos de COVID-19 debido a la baja tasa de vacunación generalmente por falta de accesibilidad, o debido a la emergencia de nuevas variantes del virus, lo que sigue ocasionando desarrollo de formas severas de la enfermedad en ciertos individuos. Los microARNs, unas pequeñas moléculas, se ha visto desregulados en relación con la COVID-19, resultando en dianas importantes para el desarrollo de estrategia de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. La terapia mediante oligonucleótidos antisentido (ASO, del inglés *antisense oligonucleotide*) ha sido investigada durante muchos años, y se plantea como una opción prometedora al dirigirla a miRNAs diana, lo que se ha usado con éxito para el tratamiento de otras enfermedades, entre ellas víricas.

En el presente trabajo se plantea una revisión bibliográfica utilizando diferentes motores de búsqueda sobre el estado actual del conocimiento y últimos avances en relación con la investigación en el desarrollo de nanoligómeros, específicamente los oligonucleótidos antisentido o ASOs como terapia dirigida a miRNAs en tratamiento de la COVID-19, proporcionando así información relevante sobre su potencial utilidad diagnóstica y pronóstica.

## Abstract

---

The COVID-19 pandemic has highlighted the need to develop appropriate antiviral treatments against SARS-CoV-2. Currently, there continue to be spikes in COVID-19 cases due to the low vaccination rate, generally due to lack of accessibility, or the emergence of new variants of the virus, which continues to cause the development of severe forms of the disease in certain cases. MicroRNAs, small RNA molecules, have been found deregulated in relation to COVID-19, resulting in interesting targets for the development of a diagnosis and treatment strategy for the disease. Therapy using antisense oligonucleotides (ASO) has been investigated for many years and is proposed as a promising option by directing it to target miRNAs, which has been successfully used for the treatment of other diseases, including viral.

In the present work, a bibliographic review is proposed using different search engines on the current state of knowledge and latest advances concerning research in the development of nanoligomers, specifically antisense oligonucleotides or ASOs as therapy directed at miRNAs in the treatment of COVID-19, thus providing relevant information on its potential diagnostic and prognostic usefulness.

## Introducción

---

En marzo de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaraba la pandemia de COVID-19 (del inglés, *Coronavirus Disease 2019*), que está causada por el virus SARS-CoV-2, como una emergencia internacional de salud pública<sup>1</sup>. Esta situación inesperada requirió la adopción de medidas de emergencia y estimuló una colaboración sin precedentes entre la comunidad científica. Investigadores de diversas especialidades se unieron para desarrollar soluciones viables en un plazo extremadamente reducido, abarcando desde el diseño de vacunas hasta el desarrollo de tratamientos terapéuticos y estrategias de mitigación.<sup>1</sup> Desde entonces se han llevado a cabo extensas investigaciones para conocer los procesos fisiopatológicos de la infección viral que permitan el desarrollo de terapias efectivas hacer frente a esta enfermedad.

En tan solo un año de pandemia (2020 a 2021) se produjeron 14,9 millones de muertes en el mundo, donde la región más afectada fue el sureste asiático con casi 6 millones de muertes<sup>2</sup>. La COVID-19 puede presentar una gran variedad de fenotipos, cursando con síntomas leves, como fiebre, tos, cansancio generalizado, o pérdida del gusto y el olfato hasta avanzar hacia complicaciones respiratorias severas, como el síndrome de dificultad respiratoria aguda e insuficiencia respiratoria que requieren cuidados intensivos y puede provocar el fallecimiento del paciente.

En los últimos años, se ha descubierto que ciertas moléculas de pequeño tamaño, como son los microARNs (miRNAs), formadas aproximadamente por 19-25 nucleótidos, están implicados en la infección por SARS-CoV-2, indicando su posible rol en el desarrollo y progresión de la enfermedad. Se ha encontrado que, durante la infección por este virus, las concentraciones de estos miRNAs se ven alteradas tanto positivamente como negativamente, debido a diferentes factores, como pueden ser la respuesta del sistema inmunitario a la infección<sup>3</sup>.

Los microARNs (miRNAs) se unen a moléculas de ARNm complementarias e inhiben su traducción<sup>4</sup>, actuando principalmente como un silenciador epigenético. Sin embargo, estos miARNs también pueden promover o coactivar genes, regulando así muchos procesos, entre los que destacan la proliferación celular, la diferenciación celular, o la apoptosis, entre otros<sup>6</sup>. Aunque estos miARNs representan sólo un 2-3% dentro del genoma, se cree que modulan aproximadamente un 60% del mismo<sup>4</sup>.

Identificar miARNs desregulados podrían resultar en dianas importante para el desarrollo de estrategia de diagnóstico y tratamiento de la COVID-19. Se ha descubierto que estas moléculas están implicadas en la respuesta del sistema inmunológico, las vías de inflamación y las tormentas de citocinas, tan característica de esta enfermedad por lo que podrían ayudar a determinar el estadio, la gravedad y el riesgo de mortalidad tras la infección por este virus. Algunas investigaciones sugieren que el SARS-CoV-2 podría utilizar los miARNs del huésped para facilitar su entrada a las células y con ello facilitar su infección<sup>3</sup>. Varios estudios han propuesto diferentes miRNAs, como dianas terapéuticas ya que modulan la infección viral mientras otros son

capaces de inhibir la replicación viral como candidatos para el desarrollo de terapias dirigidas a tratar la COVID-19<sup>3</sup>.

Diferentes tipos de nanotecnologías pueden tener un impacto importante en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades relacionadas con miARNs. En este sentido, en los últimos años se han desarrollado terapias con oligonucleótidos específicos para silenciar, restaurar o modificar la expresión de genes causantes de enfermedades que han conseguido trasladarse a la clínica. En este trabajo nos centraremos específicamente en los oligonucleótidos antisentido, o también llamados ASO (del inglés *antisense oligonucleotide*) como terapia dirigida a miRNAs en tratamiento de la COVID-19.

## Objetivos

---

El principal objetivo de este trabajo es revisar el estado actual del conocimiento sobre el uso de nanoligómeros, especialmente oligonucleótidos antisentido (ASOs) dirigidos a microARNs como herramientas terapéuticas de la COVID-19.

Objetivos específicos:

- Describir brevemente la patogénesis viral del SARS-CoV-2.
- Conocer qué es un microARN y posibles implicaciones en el desarrollo de la COVID-19.
- Determinar cómo funciona la terapia con oligómeros antisentido (ASO) y su utilidad dirigidos a miRNAs en el tratamiento contra la infección por SARS-CoV-2.

## Metodología

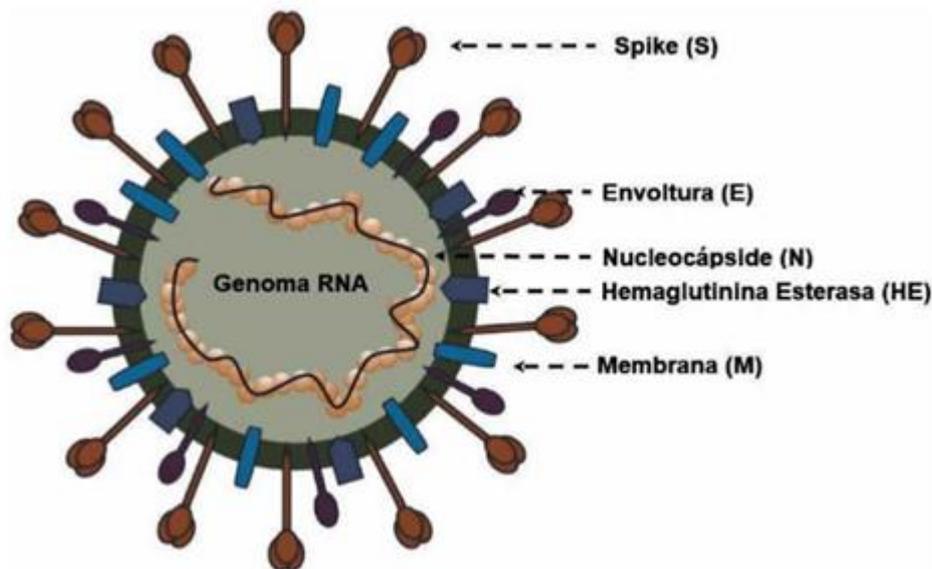
---

Para la elaboración de este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica de diversos artículos científicos (originales y de revisión) en diferentes bases de datos como SciELO, NIH, Pubmed, etc. Se incluyeron trabajos, tanto en inglés como en español, en un periodo que no superara los 5 años desde la actualidad.

En la búsqueda bibliográfica se utilizaron las siguientes palabras clave: microARN, SARS-CoV-2, COVID-19, ASO, oligonucleótido antisentido, nanoligómero.

### COVID-19 y SARS-CoV-2

El virus SARS-CoV-2, que pertenece a la familia de los Coronaviridae, es el causante de la COVID-19. El genoma viral presenta de 26 a 32 Kb de longitud que va a codificar entre otras, a las proteínas estructurales que comprenden la nucleocápside (N), rodeada por una envoltura donde se insertan las proteínas pico (S), las proteínas de membrana (M) y las proteínas de envoltura (E) <sup>6</sup>. En la **figura 1** se puede observar en detalle la estructura del SARS-CoV-2.



**Figura 1.** Forma y estructura del virus de SARS-CoV-2. Partícula vírica de SARS-CoV-2 que posee una nucleocápside (N), cubierto por una envoltura externa de proteínas estructurales principales (S), (M) y (E) y proteínas accesorias como (HE).<sup>6</sup>

El mecanismo de infección por el virus puede indicarse en los siguientes pasos<sup>7</sup>:

1-La entrada del virus SARS-CoV-2 a la célula se realiza mediante la unión de la proteína S del virus a la enzima convertidora de la angiotensina (ACE2) de la superficie de las células del tracto respiratorio. La proteína S tiene dos subunidades: la s1 que es la

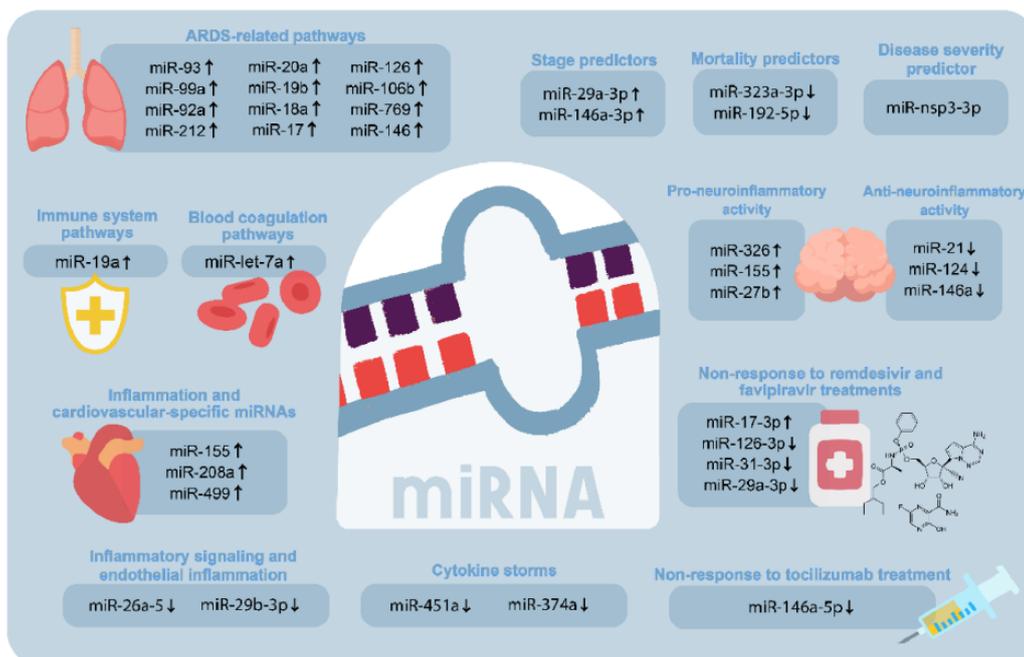


## MicroARNs en el diagnóstico y progresión de la COVID-19

Los microARNs (miARNs) son pequeñas moléculas de ácido ribonucleico (ARN) no codificantes (entre 18-22 nucleótidos). Se han identificado más de 2.500 miARNs en humanos, estando involucrados en prácticamente todos los procesos celulares, incluyendo apoptosis, desarrollo y regulación del ciclo celular. Presentan importantes funciones regulatorias a nivel postranscripcional. Son muy interesantes porque se pueden detectar en diferentes tipos de muestras biológicas (suero, plasma, sangre, orina, esputo o saliva).<sup>9</sup>

Al ser los miARNs tan pequeños, pueden ser sintetizados fácilmente, además destacan en que una misma secuencia puede modular diferentes funciones. Durante los últimos años, tanto los miARNs codificados por el huésped como los codificados por el virus se han propuesto como biomarcadores destacados de COVID-19<sup>10,11,1,3</sup>.

En la **figura 3** se señalan aquellos miRNAs que se han visto alterados asociados con la COVID-19 e involucrados en diferentes respuestas como la del sistema inmunológico, la coagulación sanguínea, las vías de inflamación y las tormentas de citocinas, así como relacionadas a diferentes patologías como el síndrome de dificultad respiratoria aguda y trastornos cardiovasculares, así como los identificados como predictores del estadio, la gravedad y el riesgo de mortalidad.



**Figura 3.** Funciones potenciales de los microARNs asociados a COVID-19 como biomarcadores y dianas terapéuticas.<sup>3</sup>

Estudios recientes han descubierto que algunos virus de ARN pueden codificar sus propios miARNs<sup>3,12,13,14</sup> como vmiR-5p<sup>16</sup> entre otros. Ciertas investigaciones han relacionado las concentraciones de uno de estos miARNs con la gravedad de la activación de la tormenta de citoquinas y posterior patología pulmonar que puede causar la infección<sup>3</sup>.

Otros estudios se han centrado en las relaciones entre los miARNs humanos y la respuesta al virus SARS-CoV-2. Los estudios de Khan *et al.* (2022) y Zhang S *et al.* (2021) han descrito que los miARNs, miR-1246, miR-200c-3p y miR-125a-5p alteran las secuencias que sintetizan el ACE2 o las vías implicadas con este, que posteriormente se han visto relacionadas con los problemas respiratorios derivados de las infecciones de COVID-19.<sup>16,17</sup>

## MicroARNs en el tratamiento de la COVID-19

Sabiendo que, durante la infección, el proceso de entrada a la célula e infección esta modulada por proteínas como TMPRSS2, la proteína espiga (S) y los receptores de entrada como la ACE2 de la célula huésped, éstas se han estado estudiando como dianas potenciales para controlar el proceso de infección, en particular aquellos que son blanco de regulación de miARNs biomarcadores. Se han encontrado varios miARNs que podrían ser reguladores de ACE2 de manera negativa.<sup>3,18</sup>

Por otro lado, una revisión realizada por Balmeh *et al.*, (2020)<sup>19</sup> indicó que diferentes estudios bioinformáticos utilizando varias bases de datos (ej. miRbase, VIRmiRNA, ej. TargetScan, miRDB, miRTarbase, Diana miRpath, Wikipathways, NCBI, GISAID) concluyeron en que 13 secuencias comunes que podrían ser usadas en investigación como dianas de estrategias terapéuticas contra SARS-CoV-2.

El tratamiento de la COVID-19 se ha basado principalmente en diferentes fármacos contra el propio virus como el Paxolivid R (Pfizer), el Molnupiravir R (Merck USA) y el Remdesivir R (Gilead) o se ha usado Dexametasona para tratar la sintomatología que genera la tormenta de citoquinas.<sup>20,21,22</sup>

Por otro lado, también se observó que pacientes con COVID-19 que no respondieron al tratamiento con medicamentos como Remdesivir o Favipiravir manifestaron niveles de expresión alterados de miARNs que podrían funcionar como nuevos objetivos terapéuticos (**figura 3**).<sup>3</sup>

Existen fármacos como el Miravirsen (Santaris Pharma), el primero desarrollado dirigido a un miARN e indicado para en tratamiento de hepatitis C, que se ha visto que podría tener efecto frente al SARS-CoV-2. Esta terapia se basa en oligonucleótidos anti-miRNAs para el tratamiento de la enfermedad.<sup>23,24</sup>

## Terapias basadas en oligonucleótidos antisentido (ASO)

Un oligonucleótido antisentido u ASO (del inglés, *antisense oligonucleotide*) es una secuencia de 12-21 nucleótidos de ADN o ARN. Estas secuencias fueron descubiertas en 1977 y un año después probadas de forma sintética para modificar el ARNm del virus del sarcoma de Rous inoculado en un ave infectada.<sup>25,26</sup> Los ASO pueden unirse a péptidos, lípidos, azúcares o anticuerpos para llegar a la célula diana.<sup>26,27</sup> Gracias a su naturaleza, los ASOs puede tener dos funciones<sup>26</sup>:

- Bloquear estructuralmente ARNs y evitar así que la secuencia pueda sintetizar la proteína deseada mediante impedimento estérico. En estos casos la molécula se puede hacer de forma más específica para que bloquee una secuencia muy concreta dentro del núcleo como, por ejemplo:
  - Inhibición por unión al codón AUG.
  - Poliadenilación en 3' a 5'.
  - Activar expresiones que podrían modificar la pauta de lectura de secuencias (uORF, upstream open reading frame).
  - Cambio de las isoformas en los exones para sintetizar un producto en específico.
- Escindir ARNs mediante el mecanismo de ARNasa H; este reconoce la secuencia y rompe la doble cadena del ADN o ARN.

Estas acciones que ejercen los ASOs tienen varias ventajas, entre ellas que, al dejar el material intacto, pueden usarse a dosis micro y nanomolares. Otra ventaja es que pueden ejercer su efecto tanto a nivel del citoplasma como del núcleo.<sup>26</sup>

Los ASOs presentan hasta el momento 3 generaciones <sup>26</sup> que están presentadas en la figura 4:

- Los **ASOs de primera generación** sustituyen el O<sub>2</sub> por metilfosfatos (metilfosfonatos), fosfotioratos (PS o fosfotioatos) o fosfoamidatos (fosfoamiratos). Son en general moléculas sin carga y su mecanismo de acción es descomponer el ARN. Aunque tienen mejor solubilidad que los no modificados tiene muchas desventajas, entre ellas, que no resisten bien las nucleasas y proteasas, y generan productos citotóxicos.
- La **segunda generación de ASOs** además de una estructura de PS, tienen modificaciones de azúcar ribosa como la modificación de H en 2' posición de ribosa por un alquilo como 2' O-Me y que aumentan su afinidad de unión y resistencia a nucleasas, y tiene su mecanismo interviene en la síntesis del propio ARN. Son menos tóxicas y algo más resistentes a las nucleasas.
- Los **ASOs de tercera generación**, ya utilizan LNA (del inglés, Lock Nucleic Acids) y PMO (morfolinas fosfodiamidato). Estas están muy modificadas, por un lado, ayudando a que sean muy específicas con su objetivo y prácticamente resistentes a la degradación de nucleasas, pero por otro lado aumentado el

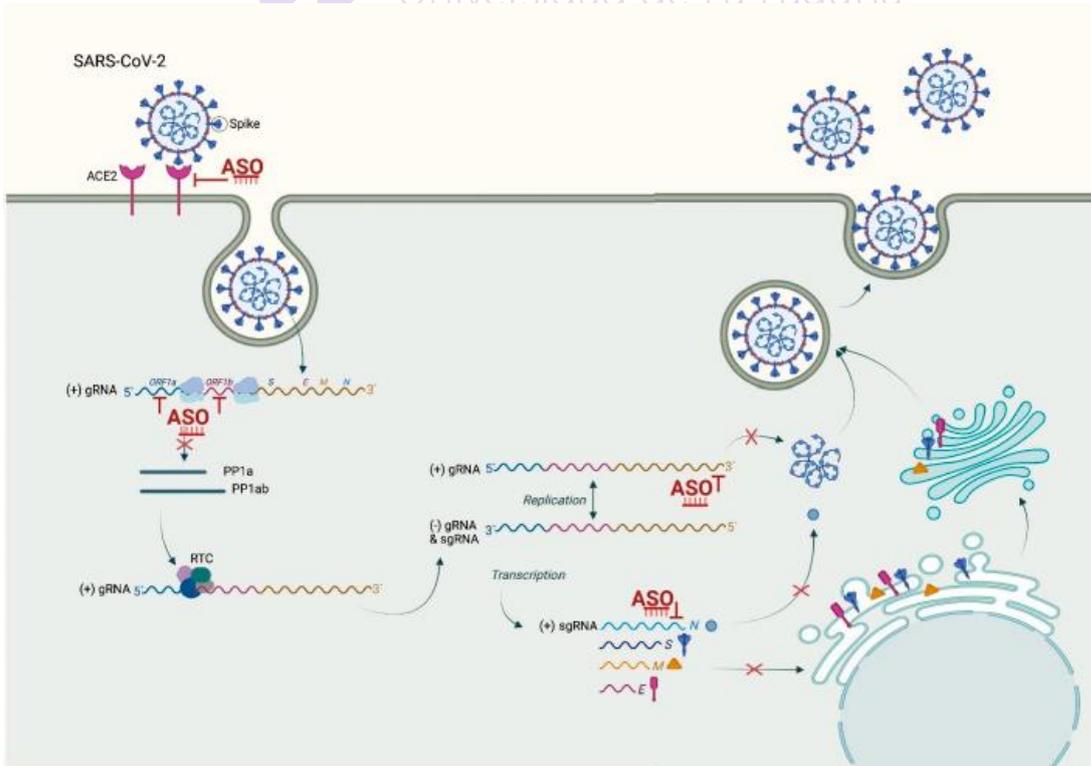
punto de fusión del ARN/ASO lo que hará que se degraden mucho más rápido y por tanto siendo más hepatotóxico. También tienen alta biodisponibilidad, pero se eliminan más rápido por la orina por lo que esto aumenta la manifestación de los efectos secundarios.<sup>30</sup>

DNA		RNA	
Antisense Oligonucleotides			
	Structures	Name	Characteristics
<b>First generation</b>		Methylphosphonate	
		Phosphorothioate (PS)	
		Phosphoramidate	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Uncharged</li> <li>• Stability</li> <li>• Solubility</li> <li>• RNase H activity: No</li> </ul>
<b>Second generation</b>		2'-O-Methyl (2'-OMe)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduction of the toxicity</li> <li>• Reduction of immune stimulation</li> <li>• Better affinity</li> <li>• RNase H activity: No</li> </ul>
		2'-O-Methoxyethyl (2'-MOE)	
		PS backbone - (2'-MOE)	
<b>Third generation</b>		Locked nucleic acid (LNA)	
		Phosphorodiamidate morpholino oligonucleotide (PMO)	
		Peptide Nucleic Acid (PNA)	

**Figura 4.** Esquema de las diferentes estructuras químicas de las 3 generaciones de los nucleótidos antisense que existen a la actualidad.

## ASOs dirigidos a miARNs mediante nanotecnología

Los ASOs podrían ser útiles tanto al prevenir la entrada del virus a la célula o en diferentes etapas de ciclo de replicación. (Figura 5)



**Figura 5.** Posible uso terapéutico de los ASOs en la infección por SARS-CoV-2. Se detalla cómo los ASOs pueden ser útiles sobre dianas en diferentes etapas de la infección celular<sup>29</sup>.

Actualmente hay medicamentos en el mercado basados en el mecanismo de oligonucleótidos antisentido (ASO) como el Formivirsen o Inotersen, que se administran para tratar infección por Citomegalovirus y polineuropatía amiloidótica familiar respectivamente. Además, se están investigando fármacos basados en ASOs con diana en los miARNs como el Miravirsen, un ASO de tercera generación que es complementario al miR-122, necesario para la síntesis del virus de la hepatitis C. Éste al descomponer el miARN ayuda a disminuir la concentración de ARN viral en los infectados.<sup>26</sup>

Los cuatro fármacos basados en ASO-PMO (3ª generación) más recientes aprobados por la FDA (del inglés, *Food and Drug Administration*) tienen una elevada eficacia, resistencia a las enzimas y baja toxicidad.<sup>30</sup>

Crear ASOs requiere que tengan un equilibrio muy significativo, ya que un exceso de especificidad puede provocar poca liberación de los productos formados, por tanto, reduciendo la eficiencia del propio ASO. El uso de ASOs presenta varios desafíos, ya que los ácidos nucleicos requieren un vehículo de administración para poder pasar a las células.



El estudio de Mc Collum *et al.* (2022) probó un tratamiento con nanoligómeros basado en la tecnología ASO en frente a la infección por SARS-CoV-2 mostrando buenos índices de seguridad y baja toxicidad en ratones, independientemente de las vías de administración empleadas. Además, exhibió una alta biodistribución a nivel pulmonar y el sitio de la infección.<sup>31</sup>

Sin embargo, las investigaciones con esta terapia se han visto retrasadas por las limitaciones inherentes de prueba en modelos *in vivo* y las etapas posteriores hacia la traslación a la clínica, que son muy necesarios e informativos sobre la seguridad y eficacia de los tratamientos.

## Conclusiones

---

El conocimiento sobre las alteraciones en la expresión de miRNAs asociadas a la COVID-19 ha avanzado enormemente en los últimos años, lo que permitiría su uso como dianas terapéuticas idóneas mediante el uso de nanotecnologías.

Se ha demostrado que el uso de oligonucleótidos antisentido o ASOs dirigidos a miARNs presentan un valor potencial, debido a su especificidad y su versatilidad, lo que abre nuevas posibilidades en el tratamiento de la COVID-19.

Nanoligómeros basados en ASOs dirigidos a miRNAs se plantean como una herramienta exitosa para otras enfermedades. En el caso de COVID-19 se convierten en una opción adecuada pero que aún requiere más conocimientos sobre su biodistribución, seguridad y farmacocinética *in vivo*.

Para su aplicación en clínica serán necesario avanzar en las investigaciones para conseguir su liberación farmacológica efectiva en el tejido diana, aspecto que se encuentra aún en las primeras fases de investigación.

## Bibliografía

---

1. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol [Internet]. 2021 [citado el 5 de junio de 2024];19(3):141-54. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33024307/>

2. Naciones Unidas: Las muertes por COVID-19 sumarían 15 millones entre 2020 y 2021. [citado el 13 de junio de 2024]. Disponible en: <https://www.un.org/es/desa/las-muertes-por-covid-19-sumarían-15-millones-entre-2020-y-2021>
3. Paul S, Bravo Vázquez LA, Reyes-Pérez PR, Estrada-Meza C, Aponte Alburquerque RA, Pathak S, et al. The role of microRNAs in solving COVID-19 puzzle from infection to therapeutics: A mini-review. *Virus Res* [Internet]. 2022 [citado el 17 de junio de 2024];308(198631):198631. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34788642/>
4. Stryer Lubert, Berg Jeremy M., Tymoczko John L.; con la colaboración de Gregory J. GattoJ Jr. *Bioquímica: con aplicaciones químicas*. 7º edición, Barcelona, Reverte;2015. p. 123-127.
5. Hum C, Loiselle J, Ahmed N, Shaw TA, Toudic C, Pezacki JP. MicroRNA mimics or inhibitors as antiviral therapeutic approaches against COVID-19. *Drugs* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];81(5):517-31. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33638807/>
6. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses* [Internet]. 2020 [citado el 26 de mayo de 2024];12(4):372. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32230900/>
7. PASTRIAN-SOTO Gabriel. Bases Genéticas y Moleculares del COVID-19 (SARS-CoV-2). Mecanismos de Patogénesis y de Respuesta Inmune. *Int. J. Odontostomat.* [Internet]. 2020 Sep [citado 2024 Mayo 01];14(3):331-337. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0718381X2020000300331&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718381X2020000300331&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300331>.
8. Zhu X, Liu Q, Du L, Lu L, Jiang S. Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines. *J Thorac Dis* [Internet]. 2013 [citado el 26 de mayo de 2024];5 Suppl 2(Suppl 2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23977435/>
9. Coronavirus [Internet]. Who.int. [citado el 13 de junio de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus> Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, How Huang K, Jen Lee M, et al. The MicroRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* [Internet]. 2010 [citado el 13 de junio de 2024];56(11):1733-41. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20847327/>
10. Fayyad-Kazan M, Makki R, Skafi N, El Homsy M, Hamade A, El Majzoub R, et al. Circulating miRNAs: Potential diagnostic role for coronavirus disease 2019

- (COVID-19). *Infect Genet Evol* [Internet]. 2021;94(105020):105020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105020>
11. Guterres A, de Azeredo Lima CH, Miranda RL, Gadelha MR. What is the potential function of microRNAs as biomarkers and therapeutic targets in COVID-19? *Infect Genet Evol* [Internet]. 2020;85(104417):104417. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104417>
  12. Nanbo A, Furuyama W, Lin Z. RNA virus-encoded miRNAs: Current insights and future challenges. *Front Microbiol* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34248890/>
  13. Tycowski KT, Guo YE, Lee N, Moss WN, Vallery TK, Xie M, et al. Viral noncoding RNAs: more surprises. *Genes Dev* [Internet]. 2015 [citado el 17 de junio de 2024];29(6):567-84. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25792595/>
  14. Zhan S, Wang Y, Chen X. RNA virus-encoded microRNAs: biogenesis, functions and perspectives on application. *ExRNA* [Internet]. 2020 [citado el 17 de junio de 2024];2(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33209991/>
  15. Pawlica P, Yario TA, White S, Wang J, Moss WN, Hui P, et al. SARS-CoV-2 expresses a microRNA-like small RNA able to selectively repress host genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];118(52). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34903581/>
  16. Khan AT-A, Khalid Z, Zahid H, Yousaf MA, Shakoory AR. A computational and bioinformatic analysis of ACE2: an elucidation of its dual role in COVID-19 pathology and finding its associated partners as potential therapeutic targets. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 2022 [citado el 17 de junio de 2024];40(4):1813-29. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33073716/>
  17. Zhang S, Amahong K, Sun X, Lian X, Liu J, Sun H, et al. The miRNA: a small but powerful RNA for COVID-19. *Brief Bioinform* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];22(2):1137-49. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33675361/>
  18. Lu D, Chatterjee S, Xiao K, Riedel I, Wang Y, Foo R, et al. MicroRNAs targeting the SARS-CoV-2 entry receptor ACE2 in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2020 [citado el 17 de junio de 2024];148:46-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32891636/>
  19. Balmeh N, Mahmoudi S, Mohammadi N, Karabedianhajiabadi A. Predicted therapeutic targets for COVID-19 disease by inhibiting SARS-CoV-2 and its related receptors. *Inform Med Unlocked* [Internet]. 2020 [citado el 17 de junio de 2024];20(100407):100407. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32835083/>
  20. Gavriatopoulou M, Ntanasis-Stathopoulos I, Korompoki E, Fotiou D, Migkou M, Tzanninis I-G, et al. Emerging treatment strategies for COVID-19 infection. *Clin Exp Med* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];21(2):167-79. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33128197/>
  21. Izda V, Jeffries MA, Sawalha AH. COVID-19: A review of therapeutic strategies and vaccine candidates. *Clin Immunol* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];222(108634):108634. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33217545/>

22. Dhone-Pollet S, Fitzpatrick C, Da Costa B, Bourgon C, Eléouët J-F, Meunier N, et al. Antisense oligonucleotides targeting ORF1b block replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Front Microbiol* [Internet]. 2022 [citado el 17 de junio de 2024];13. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36386681/>
23. Alam T, Lipovich L. MiRCOVID-19: Potential targets of human miRNAs in SARS-CoV-2 for RNA-based drug discovery. *Noncoding RNA* [Internet]. 2021 [citado el 17 de junio de 2024];7(1):18. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33801496/>
24. Bonneau E, Neveu B, Kostantin E, Tsongalis GJ, De Guire V. How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic market. *EJIFCC* [Internet]. 2019 [citado el 13 de junio de 2024];30(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31263388/>
25. Orr RM. Technology evaluation: fomivirsen, Isis Pharmaceuticals Inc/CIBA vision. *Curr Opin Mol Ther* [Internet]. 2001 [citado el 14 de junio de 2024];3(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11497353/>
26. Quemener AM, Centomo ML, Sax SL, Panella R. Small drugs, huge impact: The extraordinary impact of antisense oligonucleotides in research and drug development. *Molecules* [Internet]. 2022 [citado el 17 de junio de 2024];27(2):536. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35056851/>
27. Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2020 [citado el 17 de junio de 2024];19(10):673-94. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32782413/>
28. Naveed A, Cooper JA, Li R, Hubbard A, Chen J, Liu T, et al. NEAT1 polyA-modulating antisense oligonucleotides reveal opposing functions for both long non-coding RNA isoforms in neuroblastoma. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2021 [citado el 14 de junio de 2024];78(5):2213-30. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32914209/>
29. Rehman S ur, Tabish M. Alternative splicing of ACE2 possibly generates variants that may limit the entry of SARS-CoV-2: a potential therapeutic approach using SSOs. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2020 [citado el 14 de junio de 2024];134(10):1143-50. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32442315/>
30. Gagliardi, M., & Ashizawa, A. T. (2021). The challenges and strategies of antisense oligonucleotide drug delivery. *Biomedicines*, 9(4), 433. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040433>
31. McCollum CR, Courtney CM, O'Connor NJ, Aunins TR, Ding Y, Jordan TX, et al. Nanoligomers targeting human miRNA for the treatment of severe COVID-19 are safe and nontoxic in mice. *ACS Biomater Sci Eng* [Internet]. 2022 [citado el 17 de junio de 2024];8(7):3087-106. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35729709/>