

# UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

FACULTAD DE FARMACIA



## Trabajo De Fin De Grado



MicroARNs como herramientas en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de pulmón

TITULACIÓN: GRADO EN FARMACIA

**AUTORA:** *Omaira del Pilar Monzón León*

**TUTOR:** *Alexis Oliva Martín*

**CO-TUTOR:** *Aída Elizabeth Córdoba Lanús*

**ÁREA DE CONOCIMIENTO:** *Farmacia y Tecnología Farmacéutica*

San Cristóbal de La Laguna, 2020

# ÍNDICE

<b>ABSTRACT .....</b>	<b>3</b>
Resumen .....	3
Palabras clave .....	3
Abreviaturas.....	3
Introducción.....	4
Objetivos.....	5
Metodología.....	5
Resultados y Discusión.....	5
Cáncer de pulmón .....	5
- Tipos de cáncer de pulmón.....	6
- Factores de riesgo.....	7
MicroARNs .....	7
- Biosíntesis .....	8
- Importancia.....	10
miARNs y enfermedades humanas.....	10
miARNs y cáncer de pulmón.....	11
- Hallazgos en el diagnóstico.....	11
- Hallazgos en el tratamiento .....	13
Conclusiones.....	16
Bibliografía.....	17

## **Abstract**

Lung cancer is the leading cause of cancer death worldwide, being a major public health problem. Despite scientific advances in diagnosis and treatment, there is currently no reliable early diagnosis marker that is accessible in clinical practice. MicroRNAs (miRNAs) are RNA molecules 18-24 nucleotides in length, involved in the regulation of gene expression at the post-transcriptional level in the cell. Alterations in the expression of miRNAs in different tissues have emerged as possible diagnostic and therapeutic markers in different diseases.

## **Resumen**

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en todo el mundo, siendo un importante problema de salud pública. A pesar de los avances científicos en cuanto a diagnóstico y tratamiento, actualmente no existe un marcador confiable de diagnóstico precoz que sea accesible en la práctica clínica. Los microARNs (miARNs) son moléculas de ARN de 18 a 24 nucleótidos de longitud, involucrados en la regulación de la expresión génica a nivel postranscripcional en la célula. Alteraciones en la expresión de miARNs en diferentes tejidos han surgido como posibles marcadores diagnósticos y terapéuticos en distintas enfermedades.

## **Palabras clave**

Lung cancer, miRNA, non-small-cell lung cancer (NSCLC), serum biomarker, early diagnosis, treatment.

## **Abreviaturas**

ADC: adenocarcinoma

ARNm: ácido ribonucleico mensajero

CP: cáncer de pulmón

CPNM: cáncer de pulmón no microcítico

miARN: micro ácido ribonucleico

SCC: carcinoma de células escamosas

## INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo, después de las enfermedades cardiovasculares. En 2015, ocasionó 8,8 millones de muertes en el mundo. La detección de cáncer en una fase avanzada y la falta de diagnóstico y tratamiento precoz son problemas frecuentes. La metástasis es la principal causa de muerte por cáncer. El cáncer de pulmón (CP) es el segundo cáncer más común a nivel mundial y el que produce una mayor mortalidad (1).

Los microARNs (miARNs) son moléculas pequeñas de ácido ribonucleico (ARN) no codificantes con una longitud promedio de 22 nucleótidos, evolutivamente conservados. Están involucrados en prácticamente todos los procesos celulares, incluyendo apoptosis, desarrollo y regulación del ciclo celular. Presentan importantes funciones regulatorias a nivel postranscripcional, tanto en plantas como en animales (2).

En la actualidad, se ha documentado la existencia de cerca de 2.500 miARNs en humanos, con distintas funciones en la progresión, desarrollo o disminución de incidencia de diversas enfermedades (3). Se han identificado numerosos miARNs en especímenes de distinta naturaleza como son muestras de sangre, suero, plasma, esputo y en biopsias de tejidos (4). Del mismo modo, se ha observado una expresión aberrante de miARNs en diferentes tipos de tumores y cáncer.

Se ha investigado ampliamente el papel de los miARNs en la regulación del cáncer (carcinogénesis, desarrollo y metástasis tumoral), a través de la desestabilización o la represión traduccional de los ARN mensajeros (ARNm) diana.

Los miARNs circulantes son un horizonte novedoso en el tratamiento del CP actuando como biomarcadores terapéuticos y diagnósticos potenciales (5).

En este trabajo se presentan los hallazgos más importantes en relación con los miARNs estudiados como herramientas en el diagnóstico y tratamiento del CP.

## **OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo fue realizar una revisión bibliográfica sobre el estado del conocimiento actual de los principales miARNs estudiados en relación con el diagnóstico y tratamiento del cáncer de pulmón.

## **METODOLOGÍA**

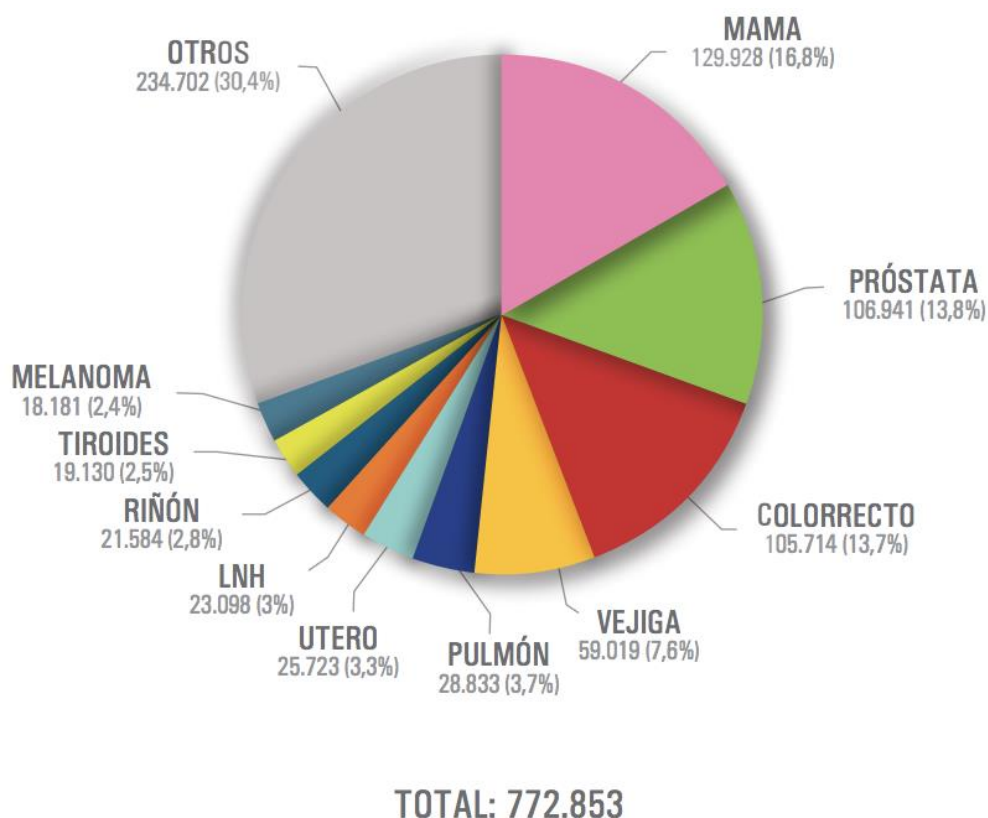
Para la elaboración del presente trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica utilizando buscadores científicos y/o páginas webs: PubMed, Scielo, NCBI, CSIC, NIH, SEOM, AECC, etc. Para la búsqueda se han introducido las siguientes palabras clave: lung cancer, miRNA, diagnostic and treatment. Se han utilizado trabajos de investigación originales, así como revisiones científicas del tema publicadas en un periodo comprendido entre el año 2000 y marzo de 2020. La bibliografía consultada utilizaba tanto el idioma inglés como español.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

De esta revisión bibliográfica se desprende que la expresión selectiva y la modulación de miARNs en relación al CP ha adquirido una importancia relevante en los últimos años. Los miARNs detectados en fluidos biológicos son útiles para el diagnóstico, clasificación y pronóstico de algunos tipos de cáncer, como el CP. A continuación, se describen los conceptos y hallazgos más significativos.

### **Cáncer de pulmón**

El CP es el que produce una mayor mortalidad en el mundo, con 1.761.007 casos en 2018, y una incidencia de 2.093.876 casos. El CP es un tumor muy frecuente, estimándose en España 29.638 nuevos casos para el año 2020. Sin embargo, debido a su alta mortalidad, su prevalencia a los 5 años es relativamente baja (6). La figura 1 muestra la prevalencia de los principales tumores en España en 2018.



**Figura 1.** Estimación de la prevalencia de tumores en España para el año 2018. (Datos en población general) (prevalencia a los 5 años) (6).

### ***Tipos de cáncer de pulmón:***

*Carcinomas microcíticos:* (microcítico: células muy pequeñas). Un 15% de los cánceres de pulmón en España son de este tipo. Se localiza preferentemente en la zona central de los pulmones. Se caracterizan por su alta agresividad y crecimiento rápido.

*Carcinomas no microcíticos (CNM):* representan el 85% restante de los cánceres de pulmón. Los tipos más frecuentes son:

- Carcinoma de células escamosas (SCC): es el más frecuente en nuestro país (40% de los CNM). Suele localizarse en la parte central de los pulmones. Tiene un crecimiento relativamente lento.

- Adenocarcinoma (ADC): 30% de los CNM. Es el menos relacionado con el consumo de tabaco, pero el más frecuente en fumadores. Suele localizarse en zonas más periféricas de los pulmones, afectando a la pleura y pared torácica (7).

## ***Factores de riesgo***

El envejecimiento es el factor de riesgo más importante para la mayoría de los cánceres. El segundo factor de riesgo más importante para el CP es el tabaquismo. Ocasiona aproximadamente el 22% de las muertes por cáncer. Para los fumadores, el riesgo de CP es en promedio 10 veces más alto que para no fumadores. El riesgo aumenta con la cantidad de cigarrillos, la duración del tabaquismo y la edad de inicio (8).

Otros factores de riesgo del CP son:

- *Exposición pasiva al humo ambiental de tabaco.*
- *Exposición ocupacional al amianto, arsénico, cromo, berilio, níquel u otras sustancias.*
- *Exposición a diferentes fuentes de radiación.*
- *Residencia en un área con contaminación ambiental.*
- *Antecedentes familiares de CP.*
- *Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).*

## **MicroARNs (miARNs)**

Los miARNs fueron descubiertos inicialmente en *Caenorhabditis elegans* (nematodos) en 1993 y en *Homo sapiens* en el 2000 (9). En una investigación llevada a cabo en 1993 se descubrió que el gen lin-4 no codificaba a una proteína, pero en cambio producía un par de ARN pequeños, de 22 y 61 nucleótidos, respectivamente (10). El ARN más corto se reconoce ahora como el miembro fundador de una clase abundante de pequeños ARN reguladores llamados microARNs (9).

Los miARNs desempeñan papeles importantes en diversos procesos celulares como la diferenciación celular, la proliferación y la apoptosis. La expresión aberrante de los mismos encontrada en diferentes tejidos debería afectar proporcionalmente a esos procesos críticos, conduciendo a varios resultados patológicos y ocasionalmente malignos (2).

Los miARNs pueden regular una variedad de genes y a su vez un tipo de miARN puede ser regulado por varios genes o factores epigenéticos. Los miARNs pueden localizarse en

intrones o exones de genes codificantes de proteínas, o en sectores no codificantes del genoma (3).

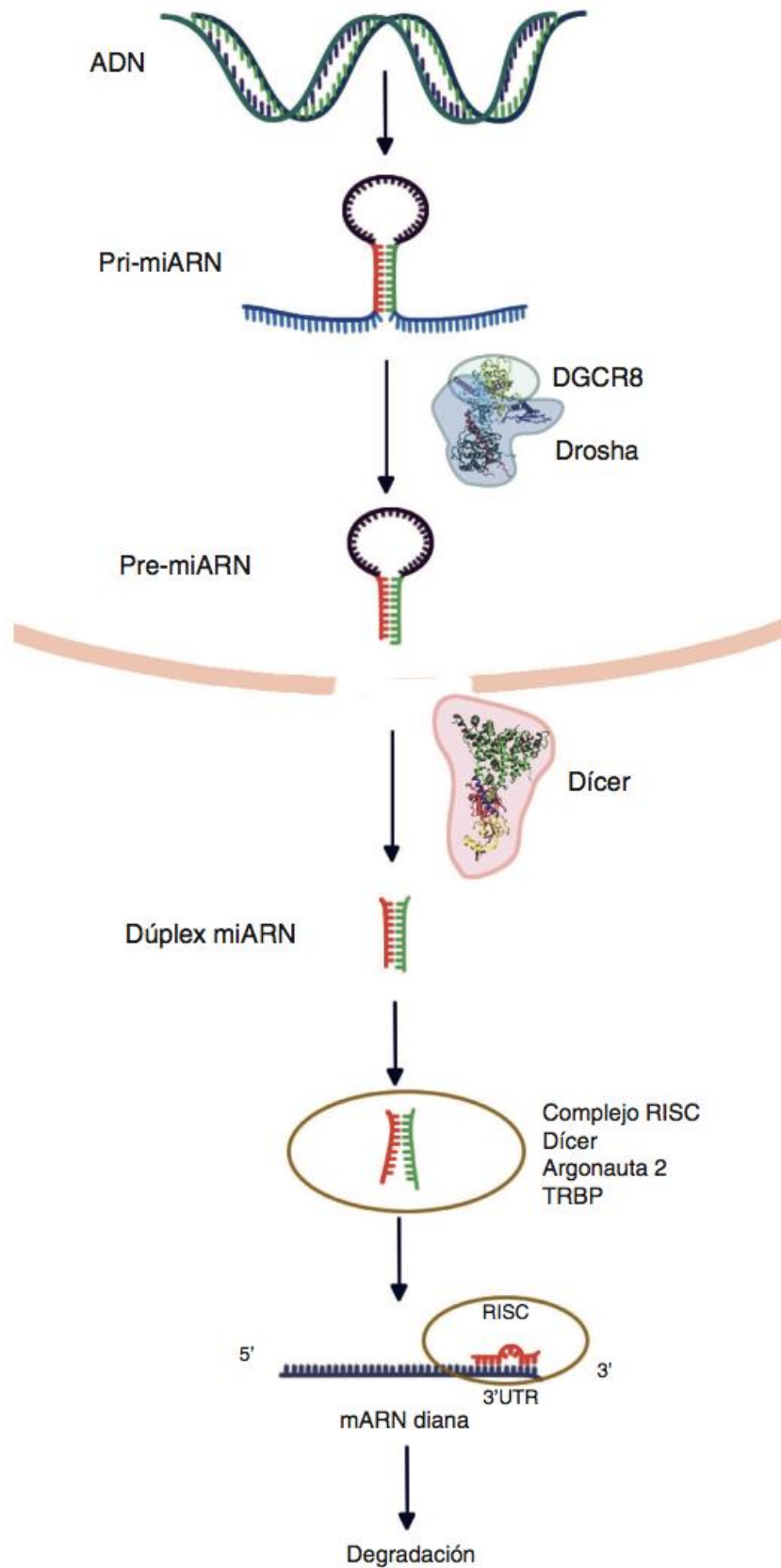
Los microARN se liberan de las células tumorales a los fluidos corporales empaquetados dentro de exosomas, vesículas de pequeño tamaño, ricos en fragmentos de ADN, proteínas, ARNm y miARN, desde donde pueden aislarse y analizarse fácilmente. Esta doble capa lipídica que los envuelve permite que los miARNs sean estables a las altas temperaturas y a la actividad ARNasa (11).

### ***Biosíntesis***

Aproximadamente la cuarta parte de los genes de miARN humanos se encuentran en los intrones de los ARNm previos y son transcritos por la polimerasa II a partir de estos. Los transcritos de miARNs primarios se llaman pri-miARN (miARN primario). El proceso de maduración del pri-miARN consta de varios pasos (2, 12) (Figura 2):

- *Escisión por una endonucleasa del pri-miARN, liberando el pre-miARN (precursor del miARN maduro).*
- *El pre-miARN es transportado desde el núcleo al citoplasma*
- *Otra endonucleasa corta los pares de bases terminales y el bucle del pre-miARN, produciendo un dúplex que comprende el miARN maduro y el miARN similar.*
- *Estos miARN maduros se ensamblan en el complejo silenciador inducido por ARN (RISC, de las siglas en inglés RNA Induced Silencing Complex).*
- *Finalmente, los miARNs pueden dirigir al RISC a regular negativamente la expresión génica por cualquiera de los dos mecanismos postranscripcionales: degradación de ARNm o inhibición de la traducción de proteínas, logrando así el efecto regulador.*





**Figura 2.** El transporte del microARN del núcleo al citoplasma y su subsecuente unión al ARNm diana en la región 3'UTR conduce, en este caso, a la represión de sus genes diana (12).

## ***Importancia***

Los biomarcadores son moléculas que, al detectarse en tejidos biológicos, sirven como indicadores de las funciones normales o patológicas de un organismo. El biomarcador ideal debe ser accesible a través de métodos no invasivos, específico para la patología de interés y sensible para la detección de la enfermedad. Pudiendo ser útil para el diagnóstico, pronóstico y/o predicción de respuesta al tratamiento (13).

En este sentido los miARNs presentan varias ventajas:

- *Son estables en muchos fluidos corporales.*
- *Las secuencias de la mayoría se conservan entre especies diferentes.*
- *El nivel de expresión de los miARNs puede evaluarse con facilidad por varios métodos.*
- *Expresión específica para los distintos tejidos.*
- *Representan muy bien el estado fisiológico de los diversos órganos.*

## **miARNs y enfermedades humanas**

Cada miARN es capaz de regular decenas o hasta centenas de genes, por lo que se encuentran involucrados en varias patologías. Se ha descrito una amplia desregulación de la expresión de diversos miARNs en varias enfermedades: cardiovasculares, endocrinas, neurológicas, virales, metabólicas, distintos tipos de cáncer (14) y diferentes procesos patológicos pulmonares, como la EPOC y el CP (15).

Algunos miARNs, como miR-21, se encuentran sobre-expresados en prácticamente todo tipo de tumores, tales como glioblastoma, cáncer de páncreas, mama, próstata, colon, etc. Las funciones reguladas por miR-21 son diversas, entre ellas se encuentran la inhibición de la cascada de las caspasas y la regulación de la muerte celular por apoptosis (13).

## miARNs y Cáncer de Pulmón

### *Hallazgos a nivel del diagnóstico del CP*

Actualmente no existe un marcador confiable de diagnóstico precoz de CP accesible en la práctica clínica. Los inconvenientes principales de las actuales pruebas de diagnóstico son:

- *Tomografía computarizada de baja dosis de radiación (TCBD): baja especificidad, alto coste y riesgo de radiación.*
- *Radiografía de tórax: baja sensibilidad.*
- *Citología del esputo: baja sensibilidad.*
- *Broncoscopia: método invasivo que presenta mayor sensibilidad en tumores centrales.*
- *Biopsia líquida: solo disponible para algunos tipos de tumores.*

El uso de TCBD, si bien es beneficioso al reducir la mortalidad hasta en un 20%, tiene el problema de presentar un alto número de falsos positivos (16). Por ello se postula que la medición de los miARNs circulantes es un método no invasivo con potencial para la detección del CP, que podría reducir los falsos positivos de la detección por TCBD.

Diversos estudios han demostrado que los perfiles de miARNs en algunos fluidos biológicos reflejan adecuadamente las características del tumor, sin necesidad de realizar biopsias del tejido (17).

Para una posible aplicación clínica sería deseable una panel simple y reproducible que incluya muy pocos miARNs. Un estudio reciente validó la eficacia del miR-223-3p como biomarcador sérico individual sugiriendo a este como altamente sensible y específico para la detección de CPNM en etapa I-II (18). Sin embargo, varios estudios han demostrado que ciertos miARNs se ven alterados en muchos tipos de cáncer acarreado la ausencia de especificidad (19).

Las combinaciones de múltiples miARNs pueden alcanzar una sensibilidad y especificidad diagnóstica de CP mayor que un solo miARN. Un estudio reciente sugiere que la combinación de miR-146b, miR-205, miR-29c y miR-30b tiene un poder diagnóstico relevante en pacientes con CPNM en estadio temprano (20).

Un metanálisis realizado sobre 20 estudios con un total de 1110 pacientes con CPNM en estadio I-II y 1009 controles, nos revela que en un modelo de detección en dos pasos para el CP utilizando primero el panel con alta sensibilidad y posteriormente el de alta especificidad, se consigue una sensibilidad general del 91,6% y una especificidad del 93,4% (Tabla 1). Estos dos conjuntos de miARNs permitirían la detección precoz de la población general con alto riesgo de CP, dominada por los fumadores (21).

<i>Panel 1</i>	<i>S (%)</i>	<i>E (%)</i>	<i>Panel 2</i>	<i>S (%)</i>	<i>E (%)</i>
<i>miR-223</i>	87,0	86,0	<i>miR-628-3p</i>	42,7	91,2
<i>miR-20a</i>	83,0	81,0	<i>miR-29c</i>	50,0	95,8
<i>miR-448</i>	85,0	77,0	<i>miR-210</i>	35,6	100,0
<i>miR-145</i>	80,6	89,2	<i>miR-1244</i>	53,8	100,0

**Tabla 1.** Paneles de miARNs utilizados en un modelo de detección en dos pasos para el CP en estadio I-II. S: sensibilidad. E: especificidad (21).

Un estudio publicado en marzo de este mismo año valoró 2588 perfiles de miARNs (constituyendo todos los miARNs humanos identificados hasta la fecha) e identificó una combinación de dos miARNs séricos (miR-1268b y miR-6075) como marcadores confiables para el CP resecable. El modelo mostró una sensibilidad y especificidad del 99%. El proyecto que pretendía caracterizar los perfiles de miARN sérico en 13 tipos de cáncer, incluido el CP, fue el estudio más grande hasta la fecha en el contexto de la detección del cáncer. Aunque la combinación de miR-1268b y miR-6075 logró la mayor precisión, miR-17-3p surgió como el mejor miARN para detectar CP. miR-17-3p es miembro del clúster miR-17/92, que desempeña funciones oncogénicas al promover la proliferación de células tumorales, la invasión y la supresión de la apoptosis de las células tumorales (22).

De forma prometedora, se ha planteado que los perfiles de miARN desregulados en sangre serían capaces de indicar la presencia de CP muchos meses antes de la aparición de síntomas e incluso antes de que la enfermedad fuera detectada por TC (23).

Muchos de los estudios realizados hasta ahora presentan varias limitaciones: tamaño de muestra insuficiente, heterogeneidad clínica de los pacientes y los controles incluidos, y/o metodologías empleadas que pueden afectar a los niveles de expresión de miARNs.

Además, la detección de miARNs a través de diversas técnicas (microarrays, PCR en tiempo real (qRT-PCR)) pueden acarrear falta de reproducibilidad, o un coste elevado en el caso de la PCR digital (ddPCR) o la secuenciación de próxima generación (NGS) (19).

### ***Hallazgos a nivel del tratamiento del CP***

Algunos estudios han demostrado como los miARNs pueden ser útiles tanto en el diagnóstico como en el tratamiento. Por ejemplo, miR-205 se ve incrementado en pacientes con CP promoviendo el crecimiento tumoral, la metástasis y la resistencia a la quimioterapia (24).

Se ha informado de que ciertos miARNs están relacionados con la metástasis: miR-23 y miR-23a desempeñando un papel importante en la inducción de la angiogénesis tumoral (25), miR-181 cuya expresión aumentada induce a la migración del CPNM (26) y miR-889-5p promoviendo el desarrollo de metástasis pulmonares *in vivo* (27).

Los tratamientos del CP en la actualidad incluyen:

- *Cirugía*
- *Radioterapia*
- *Radiocirugía*
- *Quimioterapia*
- *Terapia dirigida con medicamentos*
- *Inmunoterapia*

La radioterapia es una modalidad de tratamiento importante para el CP, pero tiene como limitación la radiorresistencia. La combinación de miARNs y radioterapia (RT) puede ser una estrategia prometedora, ya que algunos miARNs ejercen efectos radiosensibilizadores (28).

Los miARNs pueden desempeñar un papel importante en el tratamiento del CP al actuar como oncogenes para promover el desarrollo del cáncer o como supresores de tumores para inhibir este proceso, o incluso afectar en la eficacia de los medicamentos. Un miARN con actividad oncogénica es el clúster policistrónico miR17/92 (miR-17-5p, miR-17-3p, miR-18a, miR-19a, miR-20a, miR-19b-1 y miR-92-1), que se conoce también como

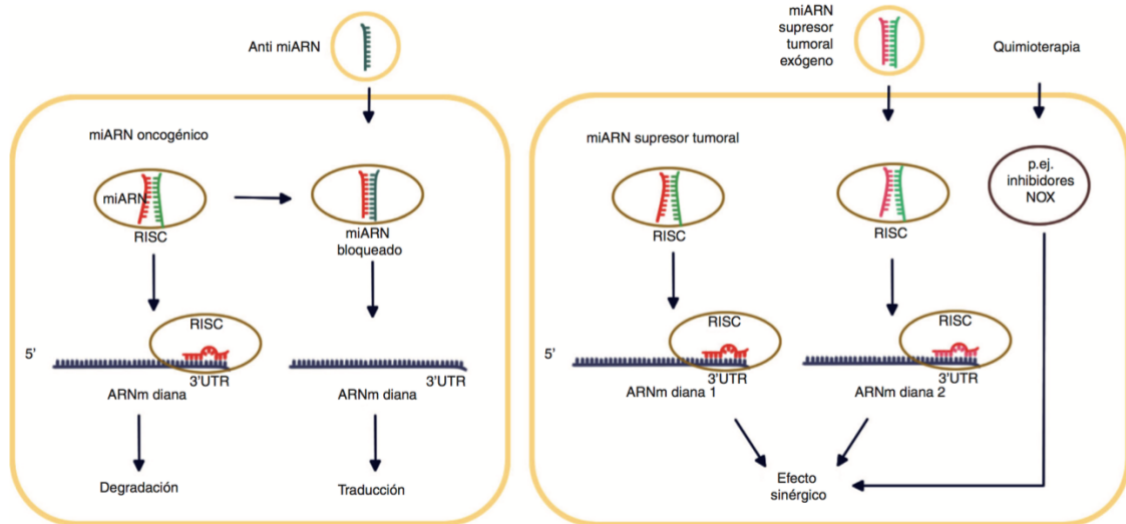
oncomiR-1. Aunque su función celular no se conoce completamente, los tumores que sobre-expresan el oncomiR-1 presentan bajos niveles de apoptosis, lo cual contribuye al desarrollo tumoral (29).

En el CP la elevada expresión de miR-21 y miR-488 se asocia con la resistencia a la quimioterapia a base de platino y con una sensibilidad mayor de las células del ADC pulmonar al cisplatino, respectivamente (30).

Un trabajo reciente señala que miR-374a, miR-92a y miR-106a sobre-expresados en las células pulmonares, actúan como oncogenes, aumentando la resistencia a los medicamentos al regular negativamente los genes que controlan la apoptosis (31). En otro trabajo, los miR-29c y miR-30b se mostraron como miARNs supresores de tumores en el CP (32).

Actualmente, los marcadores moleculares para la selección del tratamiento del cáncer hacen referencia a mutaciones impulsoras, importantes en la proliferación de las células tumorales y que están asociadas con la respuesta a tratamientos específicos. En más del 60% de los casos de CPNM, subtipo ADC, es posible identificar una mutación impulsora en un oncogén (KRAS, EGFR o EML4-ALK) (17). Algunas de estas mutaciones se detectan mediante biopsia líquida, permitiendo una monitorización de la enfermedad en distintos momentos de su evolución. La biopsia líquida se está usando para diagnóstico precoz, estimación del riesgo de metástasis, estratificación del paciente e identificación de dianas terapéuticas y mecanismos de resistencia. Las biopsias líquidas permiten detectar células tumorales circulantes (CTCs), ADN circulante tumoral (cADN), exosomas y miARNs (33).

Algunos estudios describen microARNs como biomarcadores de eficacia en la inmunoterapia, un campo emergente en el tratamiento del cáncer. Pero las estrategias terapéuticas antineoplásicas más efectivas *in vitro* consisten en la creación de miARNs artificiales capaces de inhibir la expresión de oncogenes y aumentar la expresión de genes supresores de tumores (Figura 3).



**Figura 3.** MicroARNs en el tratamiento del cáncer. Se emplean distintas estrategias dependiendo del efecto del miARN. Los anti-miARN bloquean la unión de los miARN oncogénicos con su ARN diana. Los miARNs supresores tumorales pueden actuar sinérgicamente cuando se combinan los miARNs endógenos con los exógenos. La quimioterapia también muestra propiedades sinérgicas que actúan junto con los miARNs (12).

La **terapia de reemplazo** de miARNs tiene como objetivo sustituir miARN que están poco expresados en el tumor mediante el uso de imitadores de oligonucleótidos que contienen la misma secuencia de nucleótidos que el miARN endógeno maduro. En un estudio reciente se combinó el tratamiento de imitadores de miARN-140-5p con otros medicamentos comúnmente utilizados en la práctica clínica, como gefinitib y cisplatino, y se observó un aumento de la eficacia al reducir la capacidad de migración e invasión de las células cancerosas *in vitro*, lo que sugiere una actuación sinérgica con los conocidos compuestos para el tratamiento de CPNM (34).

Para el **silenciamiento de genes** que se sobre-expresan en el cáncer se han diseñado los anti-miARN o “antagomirs”, cuya administración intravenosa resultó en una marcada reducción de los niveles de miARNs correspondientes en diversos órganos (35). La propiedad más importante de tales oligonucleótidos es la especificidad y la alta afinidad de unión al ARN.

De igual forma, se ha desarrollado un nuevo tipo de inhibidores de miARNs llamado “miARNs esponjas”, que contienen múltiples sitios para unirse a los miARNs dianas (36).

La administración de los miARNs artificiales puede lograrse utilizando vectores virales, liposomas, plásmidos, electroporación o nanopartículas (poliméricas o lipídicas) (37).

Además, se ha demostrado que las modificaciones químicas y las conjugaciones con colesterol facilitan la absorción celular, previenen la degradación y aumentan la vida media de los antagomirs (38). Por ello será necesario desarrollar métodos para regular e invertir los efectos tóxicos de tales anti-miARNs sintéticos. Este es un tema de especial relevancia dada la estabilidad de los antagonistas *in vivo*.

Una estrategia importante para la regulación de estos miARNs artificiales sería administrar ARN pequeño de interferencia o de silenciamiento (ARNip) junto a miARN con una formulación única de nanopartículas de LPH (ácido liposoma-policación-hialurónico) con capacidad para dirigirse simultáneamente a varias vías oncogénicas diferentes (39).

## CONCLUSIONES

Los miARNs son importantes reguladores de la expresión génica e intervienen en multitud de procesos celulares, debido a esto tienen un papel fundamental en la aparición y progreso del cáncer de pulmón.

Se ha demostrado su valor diagnóstico, debido a su especificidad y gran estabilidad, lo que abre una nueva ventana al diagnóstico del CP de forma eficaz y rápida. Aunque se requiere de más investigaciones para identificar las vías de señalización involucradas.

El conocimiento de alteraciones en su expresión puede establecer una huella digital para desarrollar terapias antitumorales personalizadas y evaluar la respuesta al tratamiento.

Los estudios más recientes sugieren el rol fundamental de los miARNs en el diseño de nuevas terapias para evitar y revertir la resistencia a los medicamentos en el CP de manera efectiva en el futuro.

Los anti-miARN están demostrando ser herramientas terapéuticas poderosas, aunque para su aplicación en clínica será necesario alcanzar su liberación efectiva en el tejido diana, aspecto que se encuentra aún en investigación.



**BIBLIOGRAFÍA**

- 1) OMS: Organización Mundial de la Salud [internet] [actualizado 12 de septiembre de 2018; consultado 2 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- 2) Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116(2): 281–297.
- 3) Angulo M, Lecuona E, Sznajder JI. Role of MicroRNAs in lung disease. *Arch Bronconeumol*. 2012; 48(9): 325-330.
- 4) Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, et al. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem*. 2010; 56(11): 1733–1741.
- 5) Long L, Zhang X, Bai J, Li Y, Wang X, Zhou Y. Tissue-specific and exosomal miRNAs in lung cancer radiotherapy: from regulatory mechanisms to clinical implications. *Cancer Manag Res*. 2019; 11: 4413–4424.
- 6) GLOBOCAN 2018: Global Cancer Observatory 2018 [Internet] [consultado 22 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/14-Larynx-fact-sheet.pdf>
- 7) AECC: Asociación Española Contra el Cáncer [Internet] [consultado 18 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/tipos-cancer/cancer-pulmon>
- 8) NIH: Instituto Nacional del Cáncer [Internet] [actualizado 10 de abril de 2020; consultado 22 de abril de 2020]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/pulmon/paciente/prevencion-pulmon-pdq>
- 9) Sessa R, Hata A. Role of microRNAs in lung development and pulmonary diseases. *Pulmonary Circulation*. 2013; 3(2): 315-328.
- 10) Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75(5): 843–854.
- 11) Rabinowits G, Gerçel-Taylor C, Day JM, Taylor DD, Kloecker GH. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2009; 10(1): 42-46.
- 12) Tume L, Cisneros C, Sevillano J, Pacheco-Tapia R, Matos D, Acevedo-Espínola R, et al. Desregulación de microARN en el cáncer: un enfoque terapéutico y diagnóstico. *Gac. Mex. Oncol*. 2016; 15(5): 298-304.

- 13) Mar Aguilar F, Morales MR, Rodríguez C, Reséndez D. Detección de microRNAs extracelulares y su potencial como biomarcadores moleculares. *Cienc. UANL*. 2015; 18(71): 65-74.
- 14) Croce CM. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat Rev Genet*. 2009; 10(10): 704-714.
- 15) Dai R, Ahmed SA. MicroRNA, a new paradigm for understanding immunoregulation, inflammation, and autoimmune diseases. *Transl Res*. 2011; 157(4): 163-179.
- 16) Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, Fagerstrom RM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011; 365(5): 395-409.
- 17) Passiglia F, Bronte G, Castiglia M, Listì A, Calò V, Toia F, et al. Prognostic and predictive biomarkers for targeted therapy in NSCLC: for whom the bell tolls? *Expert Opin Biol Ther*. 2015; 15(11): 1553-66.
- 18) D'Antona P, Cattoni M, Dominioni L, Poli A, Moretti F, Cinquetti R, et al. Serum miR-223: A validated biomarker for detection of early-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2019; 28(11): 1926-1933.
- 19) Detassis S, Grasso M, Del Vescovo V, Denti MA. MicroRNAs make the call in cancer personalized medicine. *Front Cell Dev Biol*. 2017; 5: 86.
- 20) Yang X, Zhang Q, Zhang M, Su W, Wang Z, Li Y, et al. Serum microRNA signature is capable of early diagnosis for non-small cell lung cancer. *Int J Biol Sci*. 2019; 15(8): 1712-1722.
- 21) Moretti F, D'Antona P, Finardi E, Barbetta M, Dominioni L, Poli A, et al. Systematic review and critique of circulating miRNAs as biomarkers of stage I-II non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(55): 94980-94996.
- 22) Asakura K, Kadota T, Matsuzaki J, Yoshida Y, Yamamoto Y, Nakagawa K, et al. A miRNA-based diagnostic model predicts resectable lung cancer in humans with high accuracy. *Commun Biol*. 2020; 3(1): 134.
- 23) Chen X, Hu Z, Wang W, Ba Y, Ma L, Zhang C, et al. Identification of ten serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as novel noninvasive biomarkers for non-small cell lung cancer diagnosis. *Int J Cancer*. 2012; 130(7): 1620-1628.

- 24) Lei L, Huang Y, Gong W. miR-205 promotes the growth, metastasis and chemoresistance of NSCLC cells by targeting PTEN. *Oncol Rep.* 2013; 30(6): 2897-2902.
- 25) Hsu YL, Hung JY, Chang WA, Lin YS, Pan YC, Tsai PH, et al. Hypoxic lung cancer-secreted exosomal miR-23a increased angiogenesis and vascular permeability by targeting prolyl hydroxylase and tight junction protein ZO-1. *Oncogene.* 2017; 36(34): 4929-4942.
- 26) Cao Y, Zhao D, Li P, Wang L, Qiao B, Qin X, et al. MicroRNA-181a-5p impedes IL-17-induced non-small cell lung cancer proliferation and migration through targeting VCAM-1. *Cell Physiol Biochem.* 2017; 42(1): 346-356.
- 27) Lam CS, Ng L, Chow AK, Wan TM, Yau S, Cheng NS, et al. Identification of microRNA 885-5p as a novel regulator of tumor metastasis by targeting CPEB2 in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(16): 26858-26870.
- 28) Long L, Zhang X, Bai J, Li Y, Wang X, Zhou Y. Tissue-specific and exosomal miRNAs in lung cancer radiotherapy: from regulatory mechanisms to clinical implications. *Cancer Manag Res.* 2019; 11: 4413–4424.
- 29) Mogilyansky E, Rigoutsos I. The miR-17/92 cluster: a comprehensive update on its genomics, genetics, functions and increasingly important and numerous roles in health and disease. *Cell Death Differ.* 2013; 20(12): 1603-1614.
- 30) Fang C, Li XP, Gong WJ, Wu NY, Tang J, Yin JY, et al. Age-related common miRNA polymorphism associated with severe toxicity in lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2016; 44: 21-29.
- 31) Florczuk M, Szpechcinski A, Chorostowska-Wynimko J. miRNAs as biomarkers and therapeutic targets in non-small cell lung cancer: current perspectives. *Target Oncol.* 2017; 12(2): 179-200.
- 32) Zhu W, He J, Chen D, Zhang B, Xu L, Ma H, et al. Expression of miR-29c, miR-93, and miR-429 as potential biomarkers for detection of early stage non-small lung cancer. *PLoS One.* 2014; 9(2): e87780.
- 33) Rolfo C, Castiglia M, Hong D, Alessandro R, Mertens I, Baggerman G, et al. Liquid biopsies in lung cancer: the new ambrosia of researchers. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1846(2): 539-456.

- 34) Flamini V, Jiang WG, Cui Y. Therapeutic role of miR-140-5p for the treatment of non-small cell lung cancer. *Anticancer Res.* 2017; 37(8): 4319-4327.
- 35) Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, et al. Silencing of microRNAs *in vivo* with ‘antagomirs’. *Nature.* 2005; 438(7068): 685-689.
- 36) Tay FC, Lim JK, Zhu H, Hin LC, Wang S. Using artificial microRNA sponges to achieve microRNA loss-of-function in cancer cells. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015; 81: 117-127.
- 37) Dahlman JE, Barnes C, Khan O, Thiriot A, Jhunjunwala S, Shaw TE, et al. *In vivo* endothelial siRNA delivery using polymeric nanoparticles with low molecular weight. *Nat Nanotechnol.* 2014; 9(8): 648-655.
- 38) van Rooij E, Liu N, Olson EN. MicroRNAs flex their muscles. *Trends Genet.* 2008; 24(4): 159-166.
- 39) Chen Y, Zhu X, Zhang X, Liu B, Huang L. Nanoparticles modified with tumor-targeting scFv deliver siRNA and miRNA for cancer therapy. *Mol Ther.* 2010; 18(9): 1650-1656.