

# microRNAs en envejecimiento cardiaco humano: dianas terapéuticas y biomarcadores

Natalia Hernández-Bellido<sup>1,2</sup>, Estel Ramos-Marquès<sup>1,2</sup>, Adrián Hernández-Vicente<sup>3,4</sup>,  
Laura García Mendivil<sup>1,2</sup>, Hazel Santander-Badules<sup>1,2</sup>, Giada Mercanti<sup>1,2</sup>, Elisa  
Garrido-Huésca<sup>1,2</sup>, Nuria Garatachea<sup>3,4,5</sup>, Ralf Köhler<sup>6,7</sup>, Esther Pueyo<sup>1,2,8</sup>, Laura  
Ordovás<sup>1,2,7</sup>

<sup>1</sup> BSICoS group, Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A), Universidad de Zaragoza (UZ), Mariano Esquillor, s/n, 50018, Zaragoza, España, Tel. +34-976762707, e-mail: [nhbellido@unizar.es](mailto:nhbellido@unizar.es), <sup>2</sup>BSICoS group, Instituto de Investigación Sanitaria (IIS) Aragón, Zaragoza, España, <sup>3</sup>GENUD group, Instituto Agroalimentario de Aragón -IA2- (CITA-UZ), Zaragoza, España, <sup>4</sup> Department of Physiatry and Nursing, Faculty of Health and Sport Sciences (FCSD), UZ, Huesca, España, <sup>5</sup> CIBER-OBN, Madrid, España, <sup>6</sup> Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (IACS), Zaragoza, España, <sup>7</sup>Fundación ARAID, <sup>8</sup>CIBER-BBN, Madrid, España

## Resumen

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte mundialmente, siendo la edad uno de los factores de riesgo más importantes. Los microRNAs (miRs) son reguladores postranscripcionales clave de múltiples procesos biológicos, entre ellos el envejecimiento cardiaco. Actualmente, los miRs son dianas terapéuticas emergentes y además, son biomarcadores de vanguardia, ya que pueden ser liberados activa o pasivamente de los tejidos a los fluidos corporales (es decir, la sangre) actuando como indicadores de procesos fisiológicos y fisiopatológicos de los tejidos. Sin embargo, el papel de los miRs en la remodelación cardiaca relacionada con la edad es poco conocido en humanos. Esto limita su uso como intervenciones anti-envejecimiento, para reducir el riesgo de ECV, pero también como biomarcadores del verdadero estado fisiológico del corazón en relación con la edad (indicadores de la edad biológica).

## Objetivo

El grupo BSICoS recientemente ha descrito la dinámica del miRNoma con la edad, cronológica y biológica, del ventrículo izquierdo humano<sup>1</sup>. Varios miRs relacionados con la edad biológica (BIO-AGEmiR) han sido identificados bioinformáticamente y se ha establecido bioinformáticamente su red de regulación génica en relación con la función cardiaca. Asimismo, se describieron BIO-AGEmiR enriquecidos en el corazón. Por tanto, nuestro objetivo es validar la red bioinformática reguladora de los BIO-AGEmiRs e investigar los miRs como indicadores de la edad biológica del corazón.

## Materiales y métodos

Se llevaron a cabo ensayos reporteros luciferasa para validar *in vitro* las interacciones entre BIO-AGEmiRNAs y sus potenciales genes diana. También, se describió un nuevo índice de edad transcriptómica individual (Apparent Age, AppAge) en leucocitos de donantes humanos sanos de jóvenes a centenarios (20-100 años) adaptando métodos previamente publicados<sup>2</sup>. Finalmente, se cuantificaron los niveles de expresión de los BIO-AGE-miRs cardiacos y mio-miRs (miRs expresados en el músculo cardiaco) en plasma de donantes sanos de los mismos individuos.

## Resultados

Por un lado, se han validado *in vitro* varias interacciones positivas entre BIO-AGEmiRNAs y sus genes diana. De las 25 interacciones testadas 11 resultaron positivas entre miR-24-2-5p, miR-24-2-3p, miR-4435 y miR-3916 y genes relacionados con funciones cardiacas (Figura 1).

Por otro lado, se estableció el nuevo índice de edad transcriptómica del individuo AppAge en leucocitos de donantes sanos de distintas edades utilizando genes relacionados con la edad previamente identificados en estudios transcriptómicos previamente publicados<sup>3-6</sup> (Figura 2). También, se cuantificaron en el plasma los niveles de expresión de los BIO-AGEmiR cardiacos y mio-miRs revelando algunos de ellos correlaciones significativas o cercanas a la significancia con la edad cronológica y que, en algunos casos, mejoraban con AppAge (Figura 3). Estos resultados sugieren que algunos de estos miRs circulantes podrían ser indicativos del estado biológico del corazón en relación con la edad.

## Conclusiones

Por un lado, el 45% de las interacciones analizadas han sido validadas *in vitro*. Así pues, los BIO-AGEmiRs se postulan como importantes reguladores de la expresión génica en la disfunción cardiaca relacionada con la edad.

Por otro lado, AppAge se propone como posible indicador de la edad biológica de un individuo. Los BIO-AGEmiRs o miomiRs cardíacos circulantes podrían informar de la edad biológica del corazón en relación con la edad cronológica y/o AppAge.

Finalmente, nuestros datos promueven el desciframiento del mecanismo molecular subyacente al proceso de envejecimiento cardiaco y su monitorización mínimamente invasiva en humanos.

## Referencias

- Ramos-Marquès, E. *et al.* Chronological and biological aging of the human left ventricular myocardium: Analysis of microRNAs contribution. *Aging Cell* **20**, e13383 (2021).
- Rhinn, H. & Abeliovich, A. Differential Aging Analysis in Human Cerebral Cortex Identifies Variants in TMEM106B and GRN that Regulate Aging Phenotypes. *Cell Syst.* **4**, 404–415.e5 (2017).
- Harries, L. W. *et al.* Human aging is characterized by focused changes in gene expression and deregulation of alternative splicing. *Aging Cell* **10**, 868–878 (2011).
- Marttila, S. *et al.* Transcriptional analysis reveals gender-specific changes in the aging of the human immune system. *PLoS One* **8**, (2013).
- Passtoors, W. *et al.* Transcriptional profiling of human familial longevity indicates a role for ASF1A and IL7R. *PLoS One* **7**, 1–10 (2012).
- Peters, M. J. *et al.* The transcriptional landscape of age in human peripheral blood. *Nat. Commun.* **2015 61** **6**, 1–14 (2015).

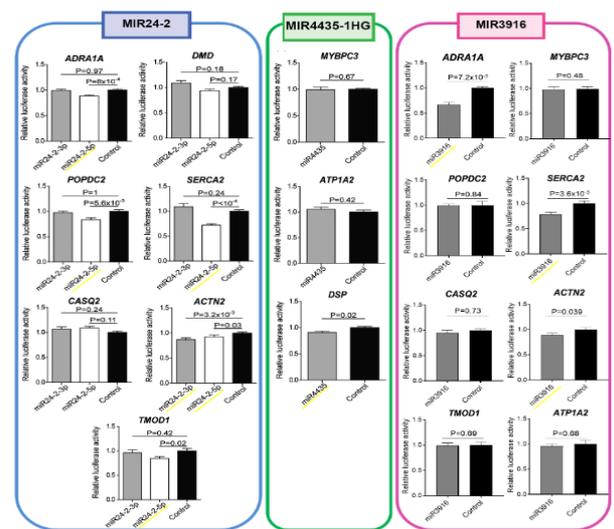


Figura 1. Interacciones entre BIO-AGEmiRs y genes relacionados con funciones cardiacas (ensayos reporteros luciferasa). El eje y muestra la señal luciferasa detectada, normalizada al control (miR con interacción negativa). Las barras de error muestran SEM, análisis estadístico test Mann-Whitney (P= p valor).

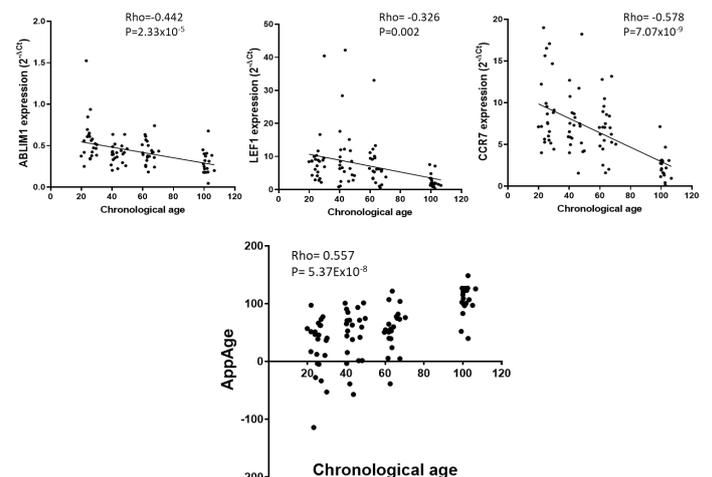


Figura 1. Cálculo AppAge a partir de la expresión de genes relacionados con la edad en leucocitos en humanos basados en métodos previamente publicados<sup>2</sup>. Análisis estadístico correlación Pearson (Rho= coeficiente de correlación, P= p valor).

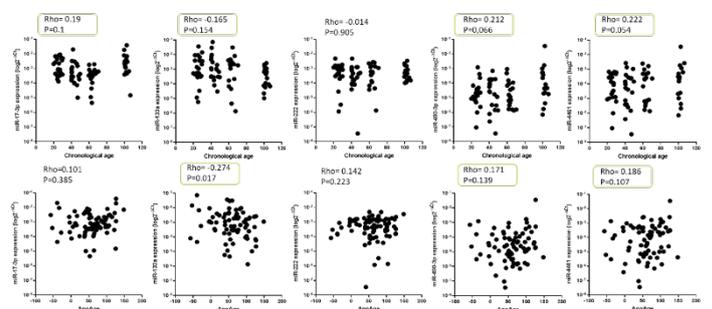


Figura 3. Correlaciones BIO-AGEmiRs cardíacos y miomiRs con la edad cronológica y AppAge. Análisis estadístico correlación Pearson (Rho= coeficiente de correlación, P= p valor).