

LA EXPRESIÓN DE VKORC1 EN HÍGADO HUMANO ESTÁ REGULADA POR EL microRNA miR-133a

R. Teruel¹, V. Pérez-Andreu¹, N. García-Barberá¹, E. Gil², M.J. López-Póveda³, J. Corral¹, V. Roldán¹, V. Vicente¹, R. González-Conejero¹, C. Martínez¹

¹Centro Regional de Hemodonación. Servicio de Hematología y Oncología Médica. Hospital Universitario Morales Meseguer. Universidad de Murcia. ²Servicio de Cirugía y ³Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Estudios *in vitro* de nuestro grupo mostraron que dos microRNA (miRNA), miR-133a y miR-147b, podrían regular de forma directa la expresión de VKORC1, molécula clave en la γ -carboxilación de las proteínas vitamina K-dependientes.

Objetivo: Evaluar la regulación de la expresión de VKORC1 por miRNA en tejido hepático humano.

Métodos: Transfectamos HepG2 con precursores de miRNA -pre-miR- o inhibidores. Además, se obtuvieron 23 hígados sanos de un Biobanco de tejidos (Hospital La Fe, Valencia). La cuantificación de la expresión de miRNA o RNAm de VKORC1, F8 y antitrombina se realizó mediante qRT-PCR. El polimorfismo rs9923231 (-1639G>A), localizado en el promotor de VKORC1 y con gran efecto funcional sobre los niveles de RNAm de esta enzima, se genotipó empleando el ensayo C_30403261_20.

Resultados: Para validar la especificidad sobre VKORC1, transfectamos HepG2 con 200 nM de pre-miR-133a y pre-miR-147b reduciéndose 50% los niveles de RNAm endógeno de VKORC1; el uso de inhibidores no los modificó. Tampoco observamos ningún efecto cuando las células se transfectaron con un miRNA sin evidencia de unión *in silico* al RNAm de VKORC1, miR-1. La transfección de HepG2 con pre-miR no provocó la disminución de F8 y antitrombina, dos RNAm con alta tasa de transcripción hepática. Para validar estos resultados *ex vivo*, analizamos la relación entre los niveles de RNAm de VKORC1 y miR-133a en tejido hepático sano. Observamos un elevado grado de variabilidad en los niveles de miR-133a en las muestras analizadas. Los niveles de RNAm de VKORC1 correlacionaban inversamente con los niveles de miR-133a ($r=-0,44$; $p=0,009$). Con el fin de descartar un potencial sesgo derivado del control transcripcional de polimorfismos del promotor del gen VKORC1, genotipamos rs9923231 en los hígados. Como era esperable, el alelo G se asoció con mayores niveles de RNAm de VKORC1. Agrupando los hígados por genotipos, la correlación entre niveles de miR-133a y RNAm de VKORC1 se mantuvo significativa en hígados GG (N=7, $p=0,039$) y GA (N=13 $p=0,036$).

Conclusiones: Nuestros datos evidencian por primera vez que la expresión de VKORC1 está regulada directamente por miR-133a en tejido hepático humano. Este nuevo mecanismo de regulación de la expresión de VKORC1 tiene importantes connotaciones en dos grandes campos: terapia anticoagulante oral, pues aquellos factores ambientales o genéticos capaces de influir en los niveles de miR-133a tendrán consecuencias en las dosis necesarias para una correcta anticoagulación. También puede ser relevante en enfermedades cardiovasculares por la importancia de VKORC1 en la calcificación arterial.

(RD06/0014/0039; 04515/GERM/06; PI08/1531; PI08/1506, EMER07/035)