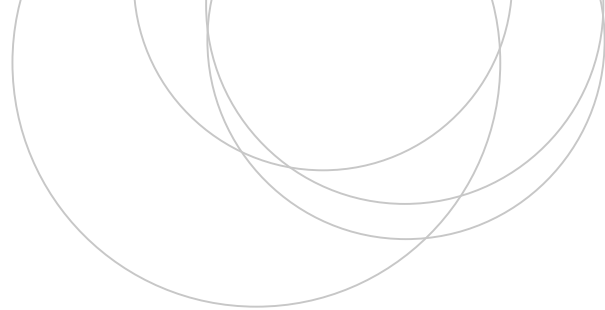




Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

ZIENTZIA
ETA TEKNOLOGIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE CIENCIA
Y TECNOLOGÍA



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Biologiako Gradua / Grado en Biología

miRNAs como una posible herramienta útil para el diagnóstico de Meduloblastoma pediátrico.

Egilea/Autora:

Nerea Berastegui Zufiaurre

Zuzendariak/Directoras:

Dra. África García-Orad Carles

Dra. Elixabet López López

© 2018, Nerea Berastegui Zufiaurre

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
1. ABSTRACT	2
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 MEDULOBLASTOMA	3
2.2 MICRORNAS Y MEDULOBLASTOMA.....	4
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	6
3.1 HIPÓTESIS	6
3.2 OBJETIVOS	6
4. MATERIALES Y MÉTODOS	6
4.1 BÚSQUEDA SISTEMÁTICA.....	6
4.2 ANÁLISIS DE LOS ESTUDIOS EN BASE A LAS EDADES DE LOS CONTROLES.....	7
4.3 PREDICCIÓN DE DIANAS DE MICRORNAS	7
4.4 ANÁLISIS DE RUTAS	8
5. RESULTADOS	8
5.1 BÚSQUEDA SISTEMÁTICA	8
5.2 MICRORNAS DE IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE MEDULOBLASTOMA PEDIÁTRICO.....	10
5.3 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A ADULTOS	11
5.4 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A NIÑOS	12
5.5 PREDICCIÓN DE GENES DIANA Y ANÁLISIS DE RUTAS	12
6. DISCUSIÓN	13
7. CONCLUSIÓN	17
8. ESTUDIOS FUTUROS	18
9. AGRADECIMIENTOS	18
10. BIBLIOGRAFÍA	18
10.1 CITAS BIBLIOGRAFICAS.....	18
10.2 REFERENCIAS ONLINE.....	23
11. MATERIAL SUPLEMENTARIO	24
11.1 MICRORNAS DE IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE MEDULOBLASTOMA PEDIÁTRICO.....	24
11.2 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A ADULTOS	27
11.3 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A NIÑOS	28
11.4 PREDICCIÓN DE GENES DIANA Y ANÁLISIS DE RUTAS.....	31

1. RESUMEN

El Meduloblastoma es el tumor maligno de sistema nervioso central (SNC) más común de la niñez, representando un 15-20% de todas las neoplasias del SNC de la infancia. Aunque en las últimas décadas la tasa de supervivencia ha mejorado considerablemente, ésta disminuye enormemente cuando sufren una recaída. Por eso, se necesitan nuevas herramientas de diagnóstico y caracterización de los pacientes para poder establecer un tratamiento adecuado para cada uno de ellos de la forma más temprana posible.

En este sentido, los microRNAs (miRNAs) han surgido como una nueva herramienta de diagnóstico, clasificación y pronóstico en el cáncer. Aunque, ya se han descrito algunos miRNAs desregulados en relación al Meduloblastoma, hasta ahora, nunca se había definido una firma para el diagnóstico de Meduloblastoma pediátrico.

Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es definir una firma de miRNAs con una posible utilidad en el diagnóstico del Meduloblastoma pediátrico mediante una revisión sistemática de la literatura.

Para llevar a cabo este trabajo, decidimos centrarnos específicamente en aquellos estudios que utilizaron casos y controles estrictamente pediátricos, ya que, se ha propuesto que hay miRNAs que se expresan diferencialmente en cerebelo con la edad. De los 112 miRNAs analizados, se consiguió una lista de dos miRNAs descritos con la misma regulación por dos o más estudios y ninguno de ellos había sido descrito hasta el momento en relación con el desarrollo del cerebelo.

En consecuencia, se sugiere que los miRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p podrían ser biomarcadores prometedores para el diagnóstico de esta enfermedad por su efecto sobre las rutas de señalización WNT y Hedgehog.

1. ABSTRACT

Medulloblastoma is the most common malignant pediatric brain tumor of the central nervous system (CNS), representing 15-20% of all childhood CNS neoplasms. Although in the last decades the survival rate has improved considerably, it decreases enormously when they suffer a relapse. Therefore, new diagnosis and patient characterization tools are needed in order to establish an adequate treatment for each of them as soon as possible.

In this sense, microRNAs (miRNAs) have emerged as new biomarkers for diagnosis, classification and prognosis in cancer. Some deregulated miRNAs have already been described in relation to Medulloblastoma, but, until now, a signature for the diagnosis of pediatric Medulloblastoma has never been defined.

Therefore, the main objective of this study is to define a signature of miRNAs with a possible usefulness in the diagnosis of pediatric Medulloblastoma through a systematic review of the literature.

To carry out this work, we decided to focus specifically on those studies which used strictly pediatric cases and controls, since it has been proposed that there are miRNAs that are differentially expressed in the cerebellum through the years. Of the 112 miRNAs analyzed, a list of two miRNAs described with the same regulation by two or more studies was obtained. None of them had already been described in relation to the development of the cerebellum.

Consequently, it is suggested that the miRNAs hsa-miR-138-5p and hsa-miR-216a-5p could be promising biomarkers for the diagnosis of this disease because of its effect on the WNT and Hedgehog signaling pathways.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 MEDULOBLASTOMA

El Meduloblastoma es el tumor maligno de sistema nervioso central (SNC) más común de la niñez, representando un 15-20% de todas las neoplasias del SNC de la infancia. Éste, se origina a partir de los precursores de células granulares en la capa germinal externa del cerebelo en desarrollo y puede propagarse al cerebro y a la médula espinal mediante el líquido cefalorraquídeo (Kumar *et al.*, 2017).

En las últimas décadas las tasas de supervivencia han mejorado, pasando del 22% en 1950 (Farwell *et al.*, 1984) al 50% a finales de 1970 (Packer *et al.*, 1991) e incluso a un 85% con los enfoques actuales (Ramáswamy *et al.*, 2016). Mayormente, estas mejoras se deben a: 1) la adición de quimioterapia sistémica a los tratamientos estándares de cirugía y radioterapia, 2) la utilización de técnicas más avanzadas de cirugía y radioterapia, 3) la intensificación de la terapia y la mejora en los cuidados. Desafortunadamente, estos buenos resultados no se aplican a aquellos pacientes que sufren una recaída, ya que en este grupo de pacientes la supervivencia es de sólo un 6%, siendo prácticamente incurable una vez se ha producido la recaída (Sabel *et al.*, 2016). Por tanto, mejorar el diagnóstico y predecir qué grupo de pacientes está en mayor riesgo de recaída y poder ajustar el tratamiento es uno de los retos de la medicina actual.

Aunque se sigue manteniendo la clasificación histopatológica, la reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 divide a los pacientes en cuatro grupos a nivel molecular: MB-WNT activado, MB-SHH activado y otros dos denominados “grupo 3” y “grupo 4” (Louis *et al.*, 2016). A pesar de este avance en la clasificación, a día de hoy, no se ha determinado su utilidad en la clínica. Los datos moleculares que se determinan para clasificar el riesgo biológico en los MBs son las mutaciones de β -catenina y las amplificaciones de c-myc y n-myc, (Taylor *et al.*, 2012). Hoy en día, en la rutina clínica, hablamos de pacientes de riesgo estándar y de alto riesgo: el grupo de riesgo estándar corresponde a los pacientes, con edad mayor de 3 años, con histología clásica (Kool *et al.*, 2012), resto tumoral tras cirugía $<1,5 \text{ cm}^2$, c-myc/n-myc no amplificados y ausencia de enfermedad metastásica. El grupo de alto riesgo corresponde a los pacientes con c-myc/n-myc amplificados, resto tumoral $>1,5 \text{ cm}^2$ y/o metástasis en el momento del diagnóstico o histología anaplásica (Von Hoff *et al.*, 2009; Lannering *et al.*, 2012). En base a esta clasificación de riesgo clínico-biológico, se ajustan los tratamientos

A pesar del ajuste según el grupo de riesgo, hay pacientes que presentan recaídas en ambos grupos. A día de hoy, no existen marcadores que permitan reconocer qué pacientes tienen un mayor riesgo de recaída y, de ese modo, ajustar el tratamiento. Por eso, se necesitan nuevos biomarcadores con utilidad en la clínica para mejorar la caracterización molecular y el diagnóstico de los pacientes con Meduloblastoma pediátrico.

2.2 MICRO-RNAS Y MEDULOBLASTOMA

Los microRNAs (miRNAs) son RNAs no codificantes de unos 18-22bp de longitud que tienen como función la regulación génica a nivel post-transcripcional, mediante la unión específica al RNA mensajero (mRNA) de sus genes diana. Para ello, tienen una secuencia característica de unos 7pb conocida como región semilla, la cual se une específicamente a la secuencia diana complementaria en la región 3' UTR del mRNA (Gregory *et al.*, 2004).

Los miRNAs se transcriben desde diferentes lugares en el genoma mediante la RNA polimerasa II en transcritos primarios largos llamados pri-miRNAs (dsDNA, 300-5000 pb). Éstos, se procesan en el núcleo celular por la ribonucleasa DROSHA obteniéndose una estructura corta de 70 nucleótidos en forma de tallo-lazo (*stem-loop*) conocida como pre-miRNA, la cual se transporta al citoplasma. Estos pre-miRNA son luego procesados a miRNA maduros en el citoplasma mediante la interacción con la ribonucleasa DICER, generando una molécula de dsRNA conocida como miRNA dúplex. El miRNA dúplex se separa para formar el miRNA maduro de una sola hebra. La cadena seleccionada del miRNA maduro se incorpora en un complejo multiproteico conocido como RISC (RNA-induced silencing complex). Este complejo es el responsable del silenciamiento de genes (Figura 1) (Gutiérrez., 2016).

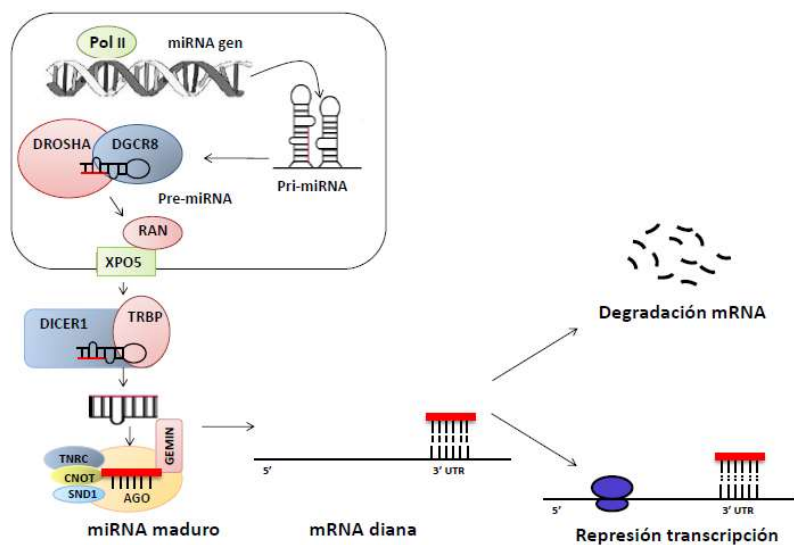


Figura 1. Biogénesis y mecanismo de acción de miRNAs (adaptado por (Gutiérrez, 2016) de (Ryan *et al.*, 2010)).

El mecanismo de silenciamiento depende del grado de complementariedad entre el miRNA y el mRNA: degradación si la complementariedad es perfecta; bloqueo de la traducción en el caso del emparejamiento de bases imperfecto. (Ryan *et al.*, 2010). Dado que la región complementaria a la región semilla del miRNA es corta, un único miRNA puede reprimir a diferentes mRNA. Pero, también cabe la posibilidad de que un único gen sea regulado por diferentes miRNAs. Así, regulan más del 50% de nuestros genes (Friedman *et al.*, 2009). Entre los genes regulados por los miRNAs, se encuentran genes de las 10 rutas principales implicadas en cáncer (Hanahan *et al.*, 2011). Esto, ha permitido definir los términos oncomir, miRNA que sobre-expresado favorece la evolución del tumor, y miR supresor, miRNA que, al reducirse su expresión, deja de llevar a cabo su efecto anti-tumoral (Berindan-Neagoe *et al.*, 2014).

Los miRNAs están demostrando ser una potente herramienta para la clínica ya que se ha visto que sirven como marcadores de diagnóstico y pronóstico de muchos cánceres. Por ejemplo, ya se han definido firmas de miRNAs en el caso del cáncer de colon (Coebergh van den Braak *et al.*, 2018) y en diferentes tumores cerebrales pediátricos (Tantawy *et al.*, 2018).

En este contexto, este trabajo es parte de un proyecto más amplio que abarca la posible utilidad de los miRNAs para la clasificación, pronóstico y diagnóstico del Meduloblastoma pediátrico. Pero, en este Trabajo de Fin de Grado se evaluará específicamente la posible utilidad de los miRNAs en el diagnóstico de esta enfermedad.

Cada vez es mayor la evidencia de que los miRNAs están implicados en la patogénesis del Meduloblastoma. De hecho, ya hay estudios que encuentran diferencias en la expresión de miRNAs en el cerebelo de pacientes con Meduloblastoma en comparación con controles sanos (Lucon *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015; Northcott *et al.*, 2009). Sin embargo, hasta ahora, no se ha definido una firma para el diagnóstico del Meduloblastoma pediátrico.

Además, cabe destacar que también se ha descrito que la expresión de algunos miRNAs en el cerebelo cambia con la edad (Somel *et al.*, 2011), por lo que sería necesario tener en cuenta el efecto de esta variable en los estudios.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS

Por tanto, considerando lo anteriormente expuesto, la hipótesis de este trabajo es que los miRNAs están implicadas en el origen y evolución del Meduloblastoma infantil y se pueden llegar a establecer firmas de miRNAs que mejorarán su diagnóstico.

3.2 OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es definir una firma de miRNAs con utilidad en el diagnóstico del meduloblastoma pediátrico.

Para alcanzar este objetivo general, los objetivos específicos del proyecto son los siguientes:

1. Llevar a cabo una revisión sistemática de todos los trabajos que impliquen miRNAs desregulados en Meduloblastoma pediátrico.
2. Seleccionar todos los miRNAs significativamente desregulados al menos en dos estudios al comparar casos de Meduloblastoma pediátrico y controles.
3. Detectar miRNAs significativos debidos a la variable de confusión por la edad.
 - a. Comparando los resultados obtenidos con estudios de miRNAs implicados en el desarrollo.
 - b. Separando los estudios en base a la edad de los controles.
4. Seleccionar aquellos estudios que utilicen casos y controles de edades menores de 18 años.
5. Definir una firma de miRNA para diagnóstico de Meduloblastoma pediátrico.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 BÚSQUEDA SISTEMÁTICA

Se realizó una búsqueda sistemática en la base de datos Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) utilizando las palabras clave: [((“Non-coding RNA AND Medulloblastoma”), (“miRNA OR miRNAs OR microRNA OR microRNAs AND Medulloblastoma”), (“Exosome AND Medulloblastoma”), (“Extracelular vesicle AND Medulloblastoma”) y (“Secretome AND Medulloblastoma”))]. La última actualización de dicha búsqueda se realizó en Marzo de 2018.

Después de eliminar los duplicados, los artículos obtenidos en la búsqueda fueron revisados uno a uno y se incluyeron aquellos que presentaban información original e independiente y que evaluaban el impacto de los miRNAs como biomarcadores de diagnóstico en Meduloblastoma en la población humana.

Mediante la lectura de los resúmenes se excluyeron las revisiones, los metaanálisis, los casos clínicos y los artículos que no tenían resumen en inglés. También fueron excluidos aquellos estudios que no analizaban desregulación de miRNAs, no estaban realizados en humanos o investigaban otras enfermedades. Después de la lectura del texto completo, los artículos que no estudiaban miRNAs, incluían otras enfermedades, no estaban realizados en humanos, eran revisiones, no estaban disponibles o eran artículos metodológicos fueron excluidos.

Los datos extraídos de cada estudio incluido fueron los siguientes: la lista específica de miRNAs desregulados en Meduloblastoma, y el tipo de desregulación (sobreexpresión o reducción de la expresión) de cada miRNA, el número y la edad de casos y controles usados, la metodología usada y el año de publicación del estudio. Para definir la asociación entre la expresión de los miRNAs y el Meduloblastoma, se tuvieron en consideración aquellos miRNAs que estaban descritos con el mismo tipo de desregulación en al menos dos estudios.

A la hora de seleccionar los miRNAs desregulados en dos o más estudios, se tuvo en cuenta el hecho de que distintas secuencias precursoras y loci genómicos que expresan secuencias maduras idénticas o estrechamente relacionadas pueden regular los mismos grupos de genes. Éstos, se distinguen por el número y/o letra que aparece como sufijo tras el nombre del miRNA (Ambros *et al.*, 2003). Todos nombres de los microRNAs se validaron en la base de datos miRBase.

4.2 ANÁLISIS DE LOS ESTUDIOS EN BASE A LAS EDADES DE LOS CONTROLES

Para encontrar una firma de Meduloblastoma pediátrico, hizo un análisis por edades. Por un lado se realizó un análisis utilizando todos los estudios juntos y luego, se estudiaron por un lado los que utilizaban controles de edad adulta y por otro lado los que utilizaban controles pediátricos.

4.3 PREDICCIÓN DE DIANAS DE MICRORNAS

Para seleccionar los genes dianas de los miRNAs se usó la base de datos MiRWalk (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/>). Se seleccionaron los genes diana predichos por al menos 8 de las 11 bases de datos proporcionadas por mirWalk. Las bases de datos que utiliza este programa son: MirWalk, miRDB, PITA, MicroT4, miRMAP, RNA22, miRanda, miRNAMap, RNAhibryd, miRBridge y PICTAR2.

4.4 ANÁLISIS DE RUTAS

El análisis de las rutas enriquecidas de los genes diana predichos fue realizado con la base de datos ConsensusPathDB (CPdB) (<http://consensuspathdb.org/>) usando el módulo “over-representation analysis”. La lista de genes se analizó frente al repertorio por defecto de las bases de datos de rutas KEGG (Kanehisa *et al.*, 2016), Reactome (Fabregat *et al.*, 2016) y BioCarta (http://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta_Pathways). Se utilizó un p-valor de corte de 0,001.

5. RESULTADOS

5.1 BÚSQUEDA SISTEMÁTICA

Se realizó una búsqueda sistemática que dio como resultado 350 artículos. Después de eliminar los duplicados, se mantuvieron 241 artículos. De éstos, 196 fueron descartados tras la lectura del resumen porque no cumplían los criterios de inclusión establecidos. La lectura del texto completo de los 51 artículos restantes se llevó a cabo detalladamente. Así, 15 artículos fueron excluidos porque no estudiaban miRNAs, incluían otras enfermedades, no estaban realizados en humanos, eran revisiones o no estaban disponibles. Finalmente, 36 artículos que investigaban el papel de los miRNAs como biomarcadores en Meduloblastoma fueron incluidos. De ellos, 28 consideraban los miRNAs como posibles biomarcadores de diagnóstico en Meduloblastoma, 13 artículos buscaban marcadores para la clasificación por subtipos y 13 valoraban el uso de miRNAs como biomarcadores de pronóstico.

Para llevar a cabo este trabajo de fin de grado, se tuvieron en consideración los 11 estudios que consideraban los miRNAs como posibles biomarcadores de diagnóstico en Meduloblastoma pediátrico (Figura 2).

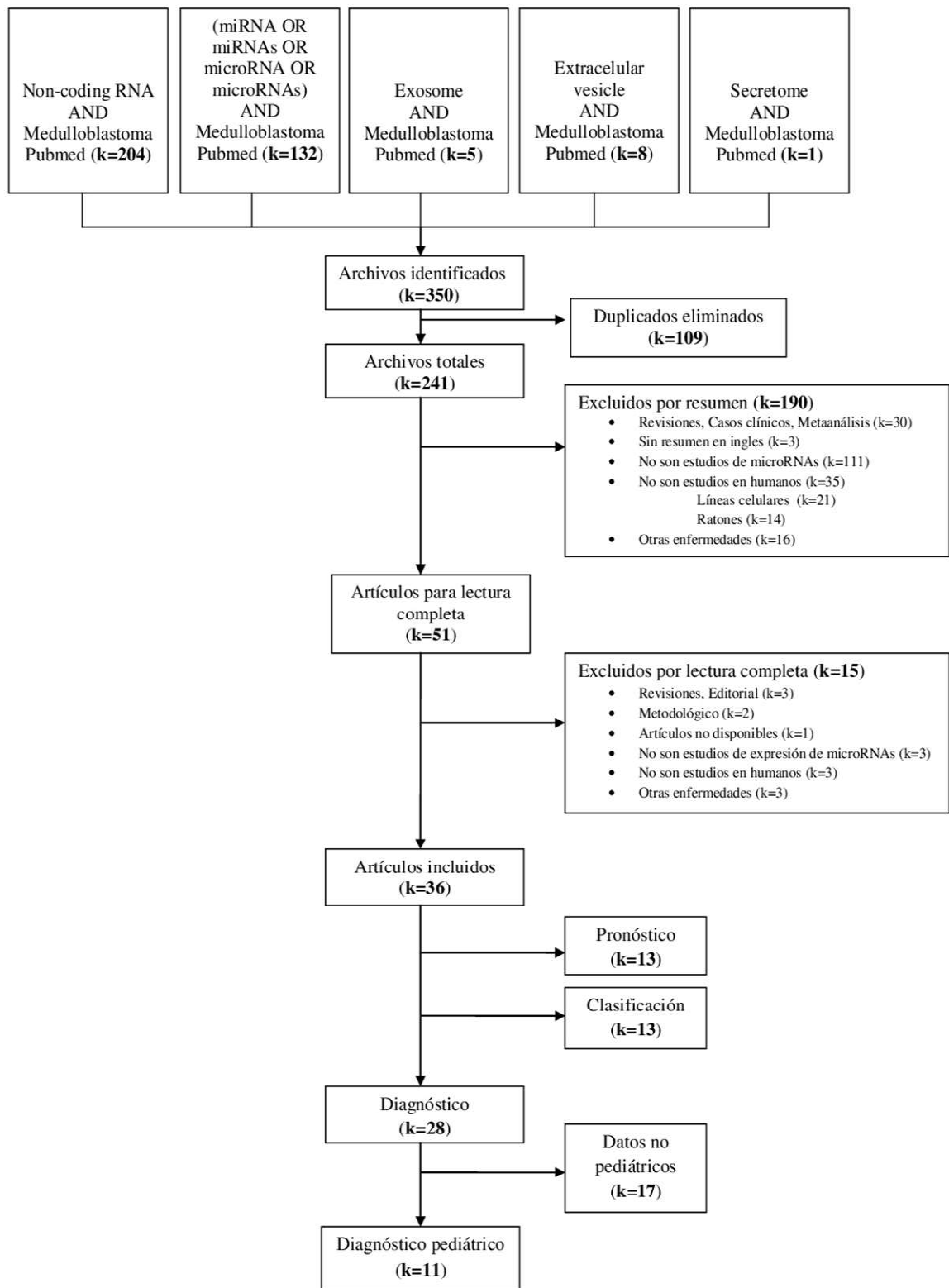


Figura 2. Flow chart que indica el proceso de inclusión y exclusión de artículos. 11 estudios usaban miRNAs como posibles marcadores de diagnóstico en Medulloblastoma pediátrico. Es importante señalar que los encajados Diagnóstico, Pronóstico y Clasificación no son excluyentes entre sí. Es decir, un sólo artículo puede estar incluido en más de uno de ellos.

5.2 MICRORNAS DE IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DEL MEDULOBLASTOMA PEDIÁTRICO

Once artículos buscaron miRNAs desregulados en pacientes con Meduloblastoma pediátrico mediante estudios de caso control (Birks *et al.*, 2011; Dai *et al.*, 2017; Fiaschetti *et al.*, 2013; Garzia *et al.*, 2009; 2011; Ka-Wai Li *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Lucon *et al.*, 2013; Pierson *et al.*, 2008; Venkataraman *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2015; & Zhang *et al.*, 2018). (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de los estudios incluidos y el conjunto de datos extraídos de ellos.

Estudios	Pacientes		Controles		microRNAs analizados	microRNAs desregulados	Método
	Número	Edad	Número	Edad			
Lucon <i>et al.</i> , 2013	6	1-5 años	6	2-39 semanas	842	84	Microarray/qRT-PCR
Ka-Wai Li <i>et al.</i> , 2015	32	6-17 años	4	16-26 semanas	1	1	Taqman/RT-PCR
Zhang <i>et al.</i> , 2018	3	1-6 años	3	1-6 años	Todos los microRNAs de mirbase		14
Birks <i>et al.</i> , 2011	4	6 años (edad media)	8	2 años	470	10	Microarray/qRT-PCR
Garzia <i>et al.</i> , 2009	61	9-169 meses	11	0-16 años	1	1	Taqman/qRT-PCR
Li <i>et al.</i> , 2016	40	7,9 años (edad media)	1	niños	1	1	RT-PCR
Fiaschetti <i>et al.</i> , 2013	19	pediátricos	5	16-26 semanas	1	1	mirvana/qRT-PCR
Yang <i>et al.</i> , 2015	29	pediátricos	ND	21-29 años	723	4	Microarray/qRT-PCR
Pierson <i>et al.</i> , 2008	10	<18 años	ND	>18 años	1	1	Trizol/qRT-PCR
Venkataraman <i>et al.</i> , 2010	3	<18 años	3	>18 años	385	30	mirvana/qRT-PCR
Dai <i>et al.</i> , 2017	9	pediátricos	3	adultos	ND	9	GEO database microarray

ND: no se especifican los datos.

En estos estudios, se encontraron 157 miRNAs significativamente desregulados (Tabla suplementaria 1) de los cuales, sólo, 14 fueron descritos como diferencialmente expresados por dos o más artículos (Tabla 2).

Tabla 2. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos dos estudios con el mismo tipo de desregulación.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-124	20p23.1/8q12.3/8p23.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Pierson <i>et al.</i> , 2008
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-138-5p	16q13.3/3p21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-206	6p12.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-216a-5p	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
		UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-127-3p	14q32.2	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-128a	2q21.3	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-129-5p	11p11.2/7q32.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-192	11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-217	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
		UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-323a-3p	14q32.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-340	5q35.3	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-383	8p22	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-432	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-9	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN	Fiaschetti <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

Después, se realizó el procedimiento previamente expuesto, pero, teniendo en cuenta los estudios que usaban controles en edad adulta por un lado y los que usaban controles en edad pediátrica por otro lado.

5.3 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A ADULTOS

Cuatro de los trece estudios incluidos, usaban controles de edad adulta (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de los estudios que usaban como controles a adultos incluidos y el conjunto de datos extraídos de ellos.

Estudios	Pacientes		Controles		microRNAs analizados	microRNAs desregulados	Método
	Número	Edad	Número	Edad			
Yang <i>et al.</i> , 2015	29	pediátricos	ND	21-29 años	723	4	Microarray/qRT-PCR
Pierson <i>et al.</i> , 2008	10	<18 años	ND	>18 años	1	1	Trizol/qRT-PCR
Venkataraman <i>et al.</i> , 2010	3	<18 años	3	>18 años	385	30	mirvana/qRT-PCR
Dai <i>et al.</i> , 2017	9	pediátricos	3	adultos	ND	9	GEO database microarray

ND: no se especifican los datos.

Del total de 45 miRNAs significativos localizados (Tabla suplementaria 2), se encontraron cuatro significativamente descritos como desregulados por dos o más estudios (Tabla 4).

Tabla 4. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos con el mismo tipo de desregulación por al menos dos estudio que usaban como controles a adultos.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-mir-124-3p	20p23.1/8q12.3/8p23.1	DOWN	Pierson <i>et al.</i> , 2008
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-128a-3p	2q21.3	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-192-5p	11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-mir-206	6p12.2	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobreexpresión del miRNA en comparación con los controles

5.4 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A NIÑOS

Los siete artículos restantes, empleaban controles de edad pediátrica (Tabla 5).

Tabla 5. Resumen de los estudios que usaban como controles a niños incluidos y el conjunto de datos extraídos de ellos.

Estudios	Pacientes		Controles		microRNAs analizados	microRNAs desregulados	Método
	Número	Edad	Número	Edad			
Lucon <i>et al.</i> , 2013	6	1-5 años	6	2-39 semanas	842	84	Microarray/qRT-PCR
Ka-Wai Li <i>et al.</i> , 2015	32	6-17 años	4	16-26 semanas	1	1	Taqman/RT-PCR
Zhang <i>et al.</i> , 2018	3	1-6 años	3	1-6 años	Todos los microRNAs de mirbase	14	Microarray/qRT-PCR
Birks <i>et al.</i> , 2011	4	6 años (edad media)	8	2 años	470	10	Microarray/qRT-PCR
Garzia <i>et al.</i> , 2009	61	9-169 meses	11	0-16 años	1	1	Taqman/qRT-PCR
Li Y <i>et al.</i> , 2016	40	7,9 años (edad media)	1	niños	1	1	RT-PCR
Fiaschetti <i>et al.</i> , 2013	9	pediátricos	5	16-26 semanas	1	1	mirvana/qRT-PCR

ND: no se especifican los datos.

Del total de 112 miRNAs analizados (Tabla suplementaria 3), se encontraron dos diferencialmente expresados de forma significativa en pacientes de Meduloblastoma en dos o más estudios (Tabla 6). Estos fueron el hsa-miR-216a-5p y el hsa-miR-138-5p..

Tabla 6. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos con el mismo tipo de desregulación por al menos dos estudio que usaban como controles a adultos.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-216a-5p	2p16.1	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-138-5p	16q13.3/3p21.31	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

5.5 PREDICCIÓN DE GENES DIANA Y ANÁLISIS DE RUTAS

Para encontrar las rutas que pudieran estar afectadas por los dos miRNAs descritos en Meduloblastoma pediátrico, primero se buscaron sus genes diana usando la base de datos miRWalk y posteriormente, se llevó a cabo un análisis de rutas enriquecidas usando la herramienta web ConsensusPathDB.

612 de los 862 genes predichos como mínimo por ocho bases de datos de las recogidas en miRWalk para estos dos miRNAs, estaban presentes por lo menos en una ruta. Éstos, dieron como resultado once rutas enriquecidas (Tabla 7).

Tabla 7. Rutas metabólicas relacionadas con el desarrollo de Meduloblastoma pediátrico precisadas a partir de los supuestos genes dianas de los 2 miRNAs que compartían la misma regulación en dos estudios.

Nombre de la ruta	Número de genes de la ruta	Cobertura de la ruta	valor de p	FDR	Base de datos
Axon guidance	357	41 (11.5%)	1.24×10^{-7}	9.76e-05	Reactome
Axon guidance - Homo sapiens (human)	175	26 (14.9%)	1.98×10^{-7}	9.76e-05	KEGG
Developmental Biology	618	53 (8.6%)	1.81×10^{-5}	0.00595	Reactome
Transcriptional regulation by RUNX3	52	11 (21.2%)	2.49×10^{-5}	0.00614	Reactome
Wnt signaling pathway - Homo sapiens (human)	146	19 (13.0%)	5.78×10^{-5}	0.0114	KEGG
Hedgehog signaling pathway - Homo sapiens (human)	47	9 (19.1%)	3.03×10^{-4}	0.0499	KEGG
Deactivation of the beta-catenin transactivating complex	30	7 (23.3%)	4.02×10^{-4}	0.0567	Reactome
Pre-NOTCH Expression and Processing	42	8 (19.0%)	6.77×10^{-4}	0.0797	Reactome
Netrin mediated repulsion signals	10	4 (40.0%)	8.28×10^{-4}	0.0797	Reactome
Trafficking of myristoylated proteins to the cilium	5	3 (60.0%)	9.80×10^{-4}	0.0797	Reactome
Hippo signaling pathway - Homo sapiens (human)	154	17 (11.0%)	9.81×10^{-4}	0.0797	KEGG

Dos de las más significativas fueron las rutas de señalización WNT con un p-valor de $5,78 \times 10^{-5}$ y la ruta de señalización Hedgehog con un p-valor de $3,03 \times 10^{-4}$, ambas previamente descritas como implicadas en Meduloblastoma. Considerando los 146 genes que componen la ruta de señalización WNT, se observó que 19 (13,0 %) eran posibles dianas de estos miRNAs (Tabla suplementaria 4). En cuanto a la ruta de señalización Hedgehog, 47 genes componen esta ruta y se vio que 9 (19,1%) de ellos eran posibles dianas de los miRNAs hsa-miR-138-3p y hsa-miR-216a-5p (Tabla suplementaria 5).

6. DISCUSIÓN

En este trabajo se estudió la relación entre los miRNAs y la susceptibilidad a desarrollar Meduloblastoma pediátrico, con el objetivo de identificar nuevos marcadores de diagnóstico. De los 157 miRNAs analizados, se encontraron un total de 14 miRNAs replicados en más de dos estudios, formando una firma de miRNAs para el diagnóstico de esta enfermedad.

Pero, tras leer la literatura, se vio que los miRNAs hsa-miR-129-5p, hsa-miR-192-5p y el hsa-miR-9-5p habían sido previamente descritos en relación al desarrollo del cerebelo (Somel *et al.*, 2011; Ferreti *et al.*, 2009) y, por tanto podrían estar mostrando las diferencias entre el cerebelo adulto y joven en

vez de la desemejanza debida a la enfermedad. Siendo tan pocos estudios los que examinan la expresión diferencial de miRNAs en el cerebelo, podría ser que más miRNAs de la firma estén realmente mostrando la desregulación debida a la adultez y aun no haber sido descritos con esa función. Visto esto, la edad de los controles debería ser un factor importante a tener en cuenta a la hora de hacer estudios de expresión de miRNAs en canceres pediátricos.

Entonces, se separaron los 157 miRNAs analizados en base a la edad de los controles utilizados en cada estudio.

Por un lado se analizaron 45 miRNAs significativamente desregulados en pacientes pediátricos con Meduloblastoma en comparación con controles adultos o mezcla de pediátricos y adultos. Se obtuvo una firma de 4 miRNAs, en la cual, el hsa-mir-192-5p había sido previamente descrito en relación al desarrollo del cerebelo (Somel *et al.*, 2011; Ferreti *et al.*, 2009). Esto apoya la hipótesis de que al utilizar controles adultos se pueden estar detectando miRNAs asociados a la edad en vez de a la enfermedad. Por esta razón, podría ser mas adecuado utilizar pacientes y controles de edad parecida para evitar efecto de la confusión de edad.

Por lo tanto, se examinaron 112 miRNAs significativamente desregulados en pacientes pediátricos de Meduloblastoma en comparación con controles pediátricos. Se consiguió una lista de dos miRNAs y ninguno de ellos había sido descrito hasta el momento en relación al desarrollo del cerebelo. En consecuencia, se sugiere que los miRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p podrían ser biomarcadores prometedores para el diagnóstico de esta enfermedad.

En línea con nuestros resultados, el miRNA hsa-miR-138-5p ya ha sido previamente descrito como sub expresado en otros canceres: el cáncer anaplástico de tiroides, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de vesícula y en el carcinoma oral de células escamosas (Sha *et al.*, 2017). Esto sugiere que podría tener la función de supresor tumoral. En cuanto al miRNA hsa-miR-216a-5p, también ha sido descrito como sobre expresado en el carcinoma hepatocelular (Chen *et al.*, 2012) además de en Meduloblastoma. Sugiriendo que éste miRNA podría ser un onco-mir en estos canceres.

Nuestro hallazgo de la subexpresión del hsa-miR-138-5p y sobreexpresión del hsa-miR-216a-5p propone un papel para estos miRNAs en el tumor, pero, queda por determinar de qué manera están asociados con la proliferación o invasión de células tumorales.

Dado que hsa-miR-216a-5p y hsa-miR-138-5p tienen funciones biológicas desconocidas, utilizamos métodos bioinformáticos para identificar genes diana potenciales y rutas biológicas. Cuando consideramos los genes regulados por estos dos miRNAs y realizamos un análisis de enriquecimiento

de rutas, observamos once rutas significativas. Entre estas, las rutas de señalización WNT y Hedgehog son conocidas por estar estrechamente relacionadas con la carcinogénesis del Meduloblastoma (Louis *et al.*, 2016).

La ruta de señalización WNT juega un papel esencial en el desarrollo del embrión controlando la proliferación y migración celular y los patrones del eje del cuerpo. Además, en el cerebro en desarrollo, la vía WNT tiene amplios efectos reguladores sobre la maduración neuronal y la formación de sinapsis (Kanehisa *et al.*, 2016). Por tanto, la expresión irregular de esta vía podría conducir a la aparición de diferentes enfermedades, incluyendo al Meduloblastoma y contribuir a explicar el papel de la desregulación de hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p en dicha patología.

Como podemos observar en la **Figura 3** diferentes genes de estas rutas se encuentran regulados por los dos miRNAs.

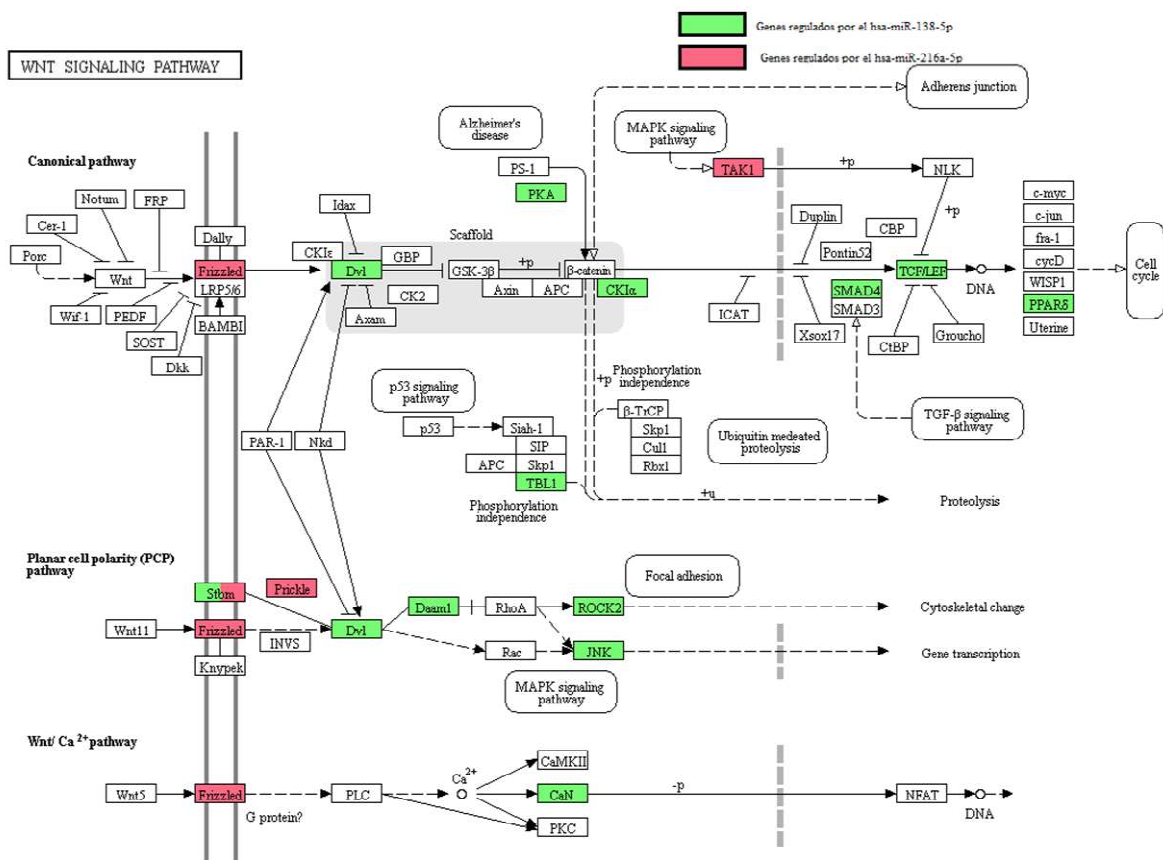


Figura 3. Ruta de señalización WNT. Se indican los genes regulados por los dos miRNAs.

Cuando la vía está desactivada, el co-activador transcripcional β-catenina (CTNNB1) se dirige de forma constitutiva a la degradación proteasomica por el complejo de destrucción, compuesto por las proteínas del andamiaje poliposis coli adenomatosa (APC) y AXIN, y las quinasas glucógeno sintasa quinasas 3 (GSK3) y caseína quinasas 1α (CSNK1A1).

La unión de WNT a sus correceptores Frizzled (FZD) y proteína 6 relacionada con receptor de lipoproteína de baja densidad (LRP6) conduce al ensamblaje de un complejo receptor que inactiva el complejo de destrucción a través de un mecanismo que implica el reclutamiento de AXIN por LRP6 y DVL. Cuando WNT se une a su receptor Frizzled, DVL inhibe a GSK-3 β , así, la β -caterina se acumula en el citoplasma y se transloca al núcleo activando los genes diana de WNT en cooperación con TCF/LEF. Estos genes diana son *c-myc*, *c-jun*, *fra-1*, *cycD*, *WISP1*, *PPAR δ* y *Uterine* y participan en el ciclo celular (Lebensohn *et al.*, 2016).

Dentro de esta ruta, la predicción de genes diana llevada a cabo en este estudio mostró que entre otros, el gen *PPAR δ* , era diana potencial del hsa-miR-138-5p. Siendo diana del hsa-miR-138-5p, la sub-expresión de dicho miRNA en Meduloblastoma pediátrico, podría llevar a la sobreexpresión de este gen.

El gene *PPAR δ* codifica un factor de transcripción involucrado en la regulación de la glucosa y la homeostasis de lípidos, en la proliferación, la diferenciación etc (Peters *et al.*, 2012). Por tanto, la sobre expresión de este, llevará al aumento de la proliferación celular y a una mayor disponibilidad de nutrientes entre otras cosas, y este incremento es un punto clave en el origen y desarrollo de cualquier tumor. En línea con nuestros resultados, estudios previos ya han demostrado la relación entre la sobreexpresión de *PPAR δ* y el aumento de proliferación celular del cáncer, el tamaño del cáncer y el crecimiento del tumor; la cual estaba relacionada con el aumento de expresión de *Glut1* y *SLC1-A5* y la activación mTOR (Zhang *et al.*, 2017).

En cuanto a la ruta de señalización Hedgehog, ésta, es una vía que transmite la señal de la membrana al núcleo y juega un papel importante en el desarrollo embrionario (Skoda *et al.*, 2017).

En ausencia de ligando Hh, Ptch se localiza en la base de la cilia primaria y reprime la actividad de Smo al inhibir su translocación en la misma. Esto conduce al corte proteolítico de GliFL pasando a ser represor Gli (GliR) por la fosforilación de PKA, GSK3 y CK1. Entonces, GliR se une a los promotores de los genes objetivo de Hh y los mantiene desactivados.

La cascada de señalización Hh se activa mediante la unión de Hh a la proteína Ptch1. El complejo Hh-Ptch se internaliza, y ambas proteínas se degradan en los lisosomas. La unión permite la expresión de Smo, y la señal de Hh se transmite corriente abajo de Smo a través del complejo de proteína citoplásmica compuesto por Kif7, Sufu y GliFL. Smo viaja a la punta de la cilia primaria y le indica a Sufu que deje de formar complejo con la proteína GliA. Este, luego migra al núcleo y activa la expresión de los genes diana *Gli*, *Ptc*, *Hhip*, *CCND* y *BCL2* (Skoda *et al.*, 2017).

La predicción de genes diana llevada a cabo en este estudio, mostro al gen que codifica la proteína antiapoptótica BCL2, al gen codificador de la proteína supresora SUFU y al gen que codifica la PKA entre otros, como dianas potenciales de los dos miRNAs significativos (Figura 4).

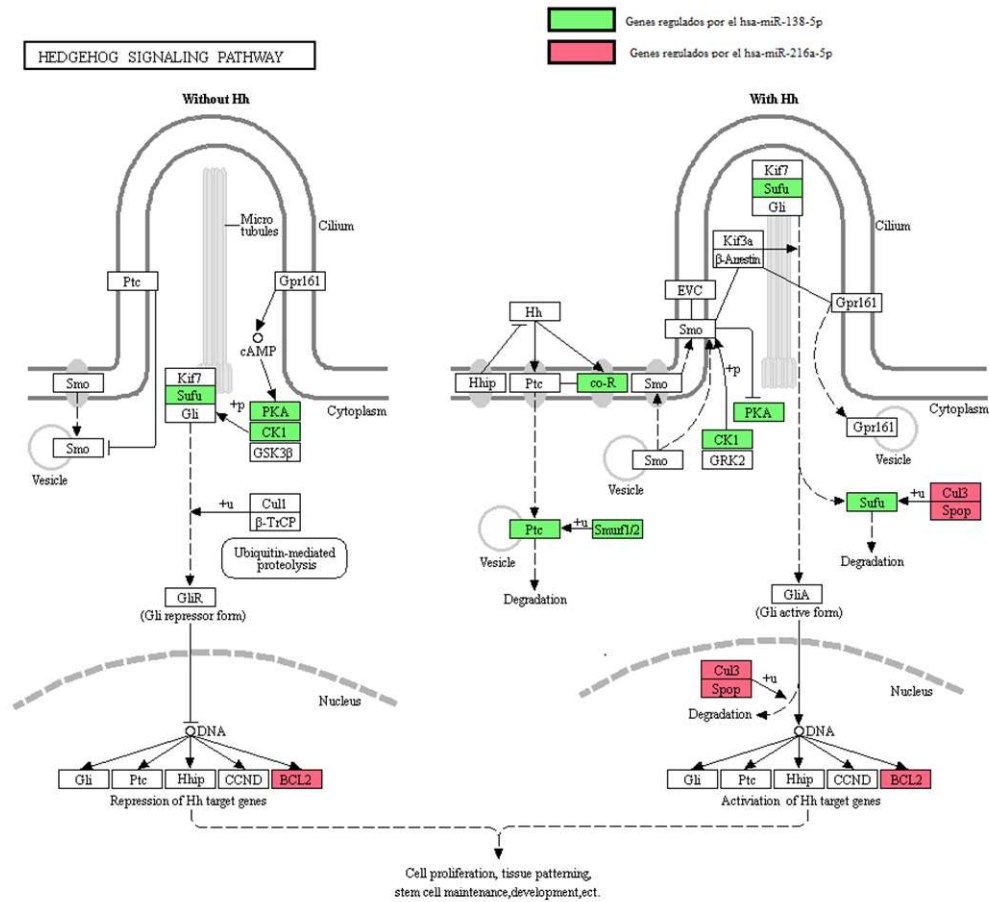


Figura 4. Ruta de señalización Hedghegog. Se indican los genes regulados por los dos miRNAs.

Numerosos estudios ya han identificado estos genes en relación a la sobre activación de la ruta Hedgheog en Meduloblastoma (Skowron *et al.*, 2018). Por todo ello, es probable que la desregulación de estos miRNAs aumente las probabilidades de desarrollar Meduloblastoma pediátrico, incrementando la función tanto de la ruta de señalización WNT como la de Hedghegog.

7. CONCLUSIÓN

En este trabajo se presentan los miRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p como nuevos marcadores de diagnóstico para esta enfermedad por su posible efecto sobre las rutas de señalización WNT y Hedghegog, lo que apunta a la utilidad de los miRNAs en este campo, a pesar de los pocos estudios realizados con pacientes y controles estrictamente pediátricos.

8. ESTUDIOS FUTUROS

Sería interesante llevar a cabo la validación de los dos miRNAs significativos logrados mediante la búsqueda sistemática de la literatura. Además, es necesario realizar más estudios de expresión de miRNAs en Meduloblastoma pediátrico con controles estrictamente pediátricos para encontrar nuevos miRNAs implicados en esta patología.

9. AGRADECIMIENTOS

Me gustaría aprovechar estas líneas para agradecer a todas las personas que han estado a mi lado y han hecho posible este trabajo. A mis directoras, por haberme ayudado a dar los primeros pasos en el mundo de la investigación y por vuestro ánimo y dedicación. A todos los del labo, que siempre habéis estado dispuestos a echarme una mano con una sonrisa.

Azkenik, eskerrik asko lau urte hauetan bidelagun izan zaituztedan guzti horiei, zoragarria izan da. Egon ziur hau ez dela agur bat izango, gero arte bat baizik.

10. BIBLIOGRAFÍA

10.1 Citas Bibliográficas

-Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D.P., Burge, C.B., Carrington, J.C., Chen, X., Dreyfuss, G., Eddy, S.R., Griffiths-Jones, S., Marshall, M., Matzke, M., Ruvkun, G. & Tuschl, T. (2003). A uniform system for microRNA annotation. *RNA*. 9: 277-279.

-Berindan-Neagoe, I., Monroig, P.C., Pasculli, B. & Calin, G.A. (2014). MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. *CA: A cancer Journal for Clinicians*. 64: 311-36.

-Birks, D.K., Barton, V.N., Donson, A.M., Handler, M.H., Vibhakar, R. & Foreman, N.K. (2011). Survey of MicroRNA Expression in Pediatric Brain Tumors. *Pediatric blood and cancer*. 56: 211-216.

-Chen, P.J., Hwei Yeh, S., Liu, W.H., Lin, C.C., Huang, H.C, Chen, C.L., Chen, D.S. & Chen, P. (2012). Androgen pathway stimulates MicroRNA-216a transcription to suppress the tumor suppressor in lung cancer-1 gene in early hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 56: 632-643.

-Coebergh van den Braak, R.R.J., Sieuwerts, A.M., Lalmahomed, Z.S., Smid, M., Wilting, S.M., Bril, S.I., Xiang, S., Van der, M., Daane, V., De Weerd, V., Van Galen, A., Biermann, K., Van Krieken,

- H., Kloosterman, W.P., Foekens, J.A., Martens, J.W.M. & Jzermans, J.N.M. (2018). Confirmation of a metastasis-specific microRNA signature in primary colon cancer. *Scientific Reports*. 27: 5242.
- Dai, J., Li, Q., Bing, Z., Zhang, Y., Niu, L., Yin, H., Yuan, G. & Pan, Y. (2017). Comprehensive analysis of a microRNA expression profile in pediatric medulloblastoma. *Medicine reports*. 15: 4109-4115.
- Fabregat, A., Sidiropoulos, K., Garapati, P., Gillespie, M., Hausmann, K., Haw, R., Jassal, B., Jupe, S., Korninger, F., McKay, S., Matthews, L., May, B., Milacic, M., Rothfels, K., Shamovsky, V., Webber, M., Weiser, J., Williams, M., Wu, G., Stein, L., Hermjakob, H. & D'Eustachio, P. (2016). The Reactome pathway Knowledgebase. *Nucleic Acids Research*. 44: D481-487.
- Farwell, J.R., Dohrmann, G.J. & Flannery, J.T. (1984). Medulloblastoma in childhood: an epidemiological study. *Journal of Neurosurgery*. 61: 657-664.
- Ferretti, E., De Smaele, E., Po, A., Di Marcotullio, L., Tosi, E., Espinola, M.S., Di Rocco, C., Riccardi, R., Giangaspero, F., Farcomeni, A., Nofroni, I., Laneve, P., Gioia, U., Caffarelli, E., Bozzoni, I., Screpanti, I & Gulino, A. (2009). MicroRNA profiling in human medulloblastoma. *International Journal of Cancer*. 124: 568-577.
- Fiaschetti, G., Abela, L., Nonoguchi, N., Dubuc, A.M., Remke, M., Boro, A., Grunder, E., Siler, U., Ohgaki, H., Taylor, M.D., Baumgartner, M., Shalaby, T. & Grotzer, M.A. (2013). *British journal of cancer*. 110: 636-647.
- Friedman, R.C., Kai-How Farh, K., Burge, C.B. & Bartel, D.P. (2009). Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Research*. 19: 92-105.
- Garzia, L., Andolfo, I., Cusanelli, E., Marino, N., Petrosino, G., De Martino, D., Esposito, V., Galeone, A., Navas, L., Esposito, S., Gargiulo, S., Fattet, S., Donofrio, V., Cinalli, G., Brunetti, A., Del Vecchio, L., Northcott, P.A., Delattre, O., Taylor, M.D., Lolascon, A. & Zollo, M. (2015). MicroRNA-199b-5p Impairs Cancer Stem Cells through Negative Regulation of HES1 in Medulloblastoma. *PLoS One*. 4: e4998.
- Gregory, R.I., Yan, K.P., Amuthan, G., Chendrimada, T., Doratotaj, B., Cooch, N. & Shiekhattar, R. (2004). The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature*. 433: 235-240.
- Gutiérrez, A. (2016). Genetic variants involved in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Susceptibility. Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Facultad de Medicina y Odontología.
- Hanah, D. & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 144: 646-674.

- Kanehisa, M., Sato, Y., Kawashima, M., Furumichi, M. & Tanabe, M. (2016). KEGG as a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Research*. 44: D457-462.
- Ka-Wai Li, K., Xia, T., Ma, F.M., Zhang, R., Mao, Y., Wang, Y., Zhou, L., Lau, K.M. & Ng, H.K. (2015). miR-106b is overexpressed in medulloblastomas and interacts directly with PTEN. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 41: 145-164.
- Kool₁ M., Korshunov₂ A., Remke₂ M., Jones₂ D.T., Schlanstein₂ M., Northcott₂ P.A., Cho₂ Y.J., Koster₂ J., Schouten-van Meeteren₂ A., Van Vuurden D., Clifford₂ S.C., Pietsch₂ T., Von Bueren₂ A.O., Rutkowski₂ S., McCabe₂ M., Collins₂ V.P., Bäcklund₂ M.L., Haberler₂ C., Bourdeaut₂ F., Delattre₂ O., Doz₂ F., Ellison₂ D.W., Gilbertson₂ R.J., Pomeroy₂ S.L., Taylor₂ M.D., Lichter₂ P. & Pfister SM. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathologica*. 123: 473-484.
- Kumar, V., Kumar, V., McGuire, T., Coulter, D.W., Sharp, J.G. & Mahato, R.I. (2017). Challenges and Recent Advances in Medulloblastoma Therapy. *Trends in pharmacological sciences*. 38: 1061-1084.
- Lannering, B., Rutkowski, S., Doz, F., Pizer, B., Gustafsson, G., Navajas, A., Massimino₂ M., Reddingius₂ R., Benesch, M., Carrie, C., Taylor, R., Gandola, L., Björk-Eriksson, T., Giralt, J., Oldenburger, F., Pietsch, T., Figarella-Branger, D., Robson, K., Forni, M., Clifford, S.C., Warmuth-Metz, M., von Hoff, K., Faldum, A., Mosseri₂ V. & Kortmann, R. (2012). Hyperfractionated versus conventional radiotherapy followed by chemotherapy in standard-risk medulloblastoma: results from the randomized multicenter HIT-SIOP PNET 4 trial. *Journal of Clinical Oncology*. 30: 3187-3193.
- Lebensohn, A.M., Dubey, R., Neitzel, L.R., Tacchelly-Benites, O., Yang, E., Caleb D Marceau, C.D., Davis, E.M., Patel, B.B., Bahrami-Nejad, Z.B., Travaglini, K.J., Yashi Ahmed, Y., Lee, E., Carette, J.E. & Rohatgi, R. (2016). Comparative genetic screens in human cells reveal new regulatory mechanisms in WNT signaling. *eLIFE*. 5: 1-40.
- Li, Y., Jiang, T., Shao, L., Liu, Y., Zheng, C., Zhong, Y., Zhang, J. & Chang, Q. (2016). Mir-449a, a potential diagnostic biomarker for WNT group of medulloblastoma.. *Journal of Neuro-Oncology*. 129: 423-431.
- Louis, D.N., Perry, A., Reifenberger, G., Von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W.K., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Kleihues, P. & Ellison, D.W. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathologica*. 131: 803–820.

- Lucon, D.R., Rocha, C.S., Craveiro, R.B., Dilloo, D., Cardinalli, I.A., Cavalcanti, D.P., Aguiar, S., Maurer-Morelli, C., & Yunes, J.A. (2013). Downregulation of 14q32 microRNAs in primary human desmoplastic medulloblastoma. *Frontiers in oncology*. 3: 354.
- Northcott, P.A., Fernandez, A., Hagan, J.P., Ellison, D.W., Grajkowska, W., Gillespie, Y., Grundy, R., Van Meter, T., Rutka, J.T., Croce, C.M., Kenney, A.M. & Taylor, M.D. (2009). The miR-17/92 polycistron is up-regulated in Sonic hedgehog-driven medulloblastomas and induced by N-myc in Sonic hedgehog-treated cerebellar neural precursors. *Cancer research*. 69: 3249-3255.
- Packer, R.J., Sutton, L.N., Goldwein, J.W., Perilongo, G., Bunin, G., Ryan, J., Cohen, B.H., D'Angio, G., Kramer, E.D., Zimmerman, R.A., Rorke, L.B., Evans, A.E. & Schut, L. (1991). Improved survival with the use of adjuvant chemotherapy in the treatment of medulloblastoma. *Journal of Neurosurgery*. 74: 433-440.
- Peters, J.M., Shah, Y.M. & Gonzalez, F.J. (2012). The role of peroxisome proliferator-activated receptors in carcinogenesis and chemoprevention. *Nature reviews cancer*. 12: 181-195.
- Pierson, J., Hostager, B., Fan, R. & Vibhakar, R. (2008). Regulation of cyclin dependent kinase 6 by microRNA 124 in medulloblastoma. *Journal of Neuro-Oncology*. 90: 1-7.
- Ramáswamy, V., Remke, M., Adamski, J., Bartels, U., Tabori, U., Wang, X., Huang, A., Hawkins, C., Mabbott, D., Laperriere, N., Taylor, M.D. & Bouffet, E. (2016). Medulloblastoma subgroup-specific outcomes in irradiated children: who are the true high-risk patients?. *Neuro-oncology*. 18: 291-297.
- Ryan, B.M., Robles, A.I., & Harris, C.C. (2010) Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. *Nature Reviews Cancer*. 10: 389-402.
- Sabel, M., Fleischhack, G., Tippelt, S., Gustafsson, G., Doz, F., Kortmann, R., Mássimino, M., Navajas, A., Von Hoff, K., Rutkowski, S., Warmuth-Metz, M., Clifford, S.C., Pietsch, T., Pizer, B., & Lannering, B. (2016). . Relapse patterns and outcome after relapse in standard risk medulloblastoma: a report from the HIT-SIOP-PNET4 study. *Neuro-oncology*. 129: 515-524.
- Sha, H.H., Wang, D.D., Chen, D., Liu, S.W., Wang, Z., Yan, D.L., Dong, S.C. & Feng, J.F. (2017). MiR-138: A promising therapeutic target for cancer. *Tumor biology*. 39.
- Skoda, A.M., Simovic, D., Karin, V., Kardum, V., Semir Vranic, S. & Serman, L. (2017). The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review. *Bosnian journal of basic medical sciences*. 18: 8-20.

- Skowron, P., Ramáswamy, V. & Taylor, M.D. (2018). Medulloblastoma in the Molecular Era. *Journal of Korean neurosurgical society*. 61: 292-301.
- Somel, M., Liu, X., Tang, L., Yan, Z., Hu, H., Guo, G., Jiang, X., Zhang, X., Xu, G., Xie, G., Li, N., Hu, Y., Chen, W., Pääbo, S. & Khaitovich, P. (2011). MicroRNA-Driven Developmental Remodeling in the Brain Distinguishes Humans from Other Primates. *PLoS Biology*. 9: e1001214.
- Tantawy, M., Elzayat, M.G., Yehia, D. & Taha, H. (2018). Identification of microRNA signature in different pediatric brain tumors. *Genetics and Molecular Biology*. 41: 27-34.14.
- Taylor, M.D., Northcott, P.A., Korshunov, A., Remke, M., Cho, Y.J., Clifford, S.C., Eberhart, C.G., Parsons, D.W., Rutkowski, S., Gajjar, A., Ellison, D.W., Lichter, P., Gilbertson, R.J., Pomeroy, S.L., Kool, M. & Pfister, S.M. (2012). Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathologica*. 123: 465-472.
- Venkataraman, S., Alimova, I., Fan, R., Harris, P., Foreman, N. & Vibhakar, R. (2010). MicroRNA 128a Increases Intracellular ROS Level by Targeting Bmi-1 and Inhibits Medulloblastoma Cancer Cell Growth by Promoting Senescence. *PLoS One*. 5: e10748.
- Von Hoff, K., Hinkes, B., Gerber, N.U., Deinlein, M., Mittler, U., Urban, C., Benesch, M., Warmuth-Metz, M., Soerensen, N., Zwiener, I., Goette, H., Schlegel, P.G., Rolf, T., JoachimKuehl, D.K. & Rutkowski, S. (2009). Long-term outcome and clinical prognostic factors in children with medulloblastoma treated in the prospective randomised multicentre trial HIT'91. *European Journal of Cancer*. 45: 1209-1217.
- Yang, S.Y., Choi, S.A., Lee, J.Y., Park, A.K., Wang, K.C., Phi, J.H., Koh, E.J., Park, W.Y., Park, S.H., Hwang, D.W., Jung, H.W. & Kim, S.K. (2015). miR-192 suppresses leptomeningeal dissemination of medulloblastoma by modulating cell proliferation and anchoring through the regulation of DHFR, integrins, and CD47. *Oncotarget*. 6: 43712-43730.
- Zhang, W., Li, L., Liang, P., Zhai, X., Li, Y. & Zhou, Y. (2018). Differential Expression of microRNAs in Medulloblastoma and the Potential Functional Consequences. *Turk neurosurgery* 28: 179-185.
- Zhang, W., Xu, Y., Xu, Q., Shi, H., Shi, J. & Hou, Y. (2017). PPAR δ promotes tumor progression via activation of Glut1 and SLC1-A5 transcription. *Carcinogenesis* 38: 748-755.

10.2 Referencias online

- PubMed: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) (Último acceso: Junio de 2018).
- miRBase database: (<http://www.mirbase.org/>) (Último acceso: Junio de 2018).
- mirWalk database: (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/>) (Último acceso: Junio de 2018).
- ConsensusPathDB database: (<http://consensuspathdb.org/>) (Último acceso: Junio de 2018).
- Biocarta database: (http://cgap.nci.nih.gov/Pathways/BioCarta_Pathways) (Último acceso: Junio de 2018).

11. MATERIAL SUPLEMENTARIO

11.1 MICRORNAS DE IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DEL MEDULOBLASTOMA

Tabla suplementaria 1. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-101	1p31.3	UP	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-105	Xq28	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-106b	7q22.1	UP	Ka-Wai Li <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-1207-5p	8q24.21	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-122	18q21.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-1224-5p	3q27.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-124	20p23.1/8q12.3/8p23.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Pierson <i>et al.</i> , 2008
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-1244	12p13.2/12p13.31/ 2q37.1/5q23.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-125b-1*	11q24.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-127-3p	14q32.2	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-127-5p	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-1283	19q13.42	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-128	2q21.3/3p22.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-128a	2q21.3	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-129-5p	11p11.2/7q32.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-129*	11p11.2/7q32.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-129-3p		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-133b	6p12.2	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-134	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-135b	1q32.1	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-138-5p	16q13.3/3p21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-138-1*	3p21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-138-2*	16q13.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-139-5p	11q13.4	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-139-3p	11q13.4	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-146b	10q24.32	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-148a	7p15.2	UP	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-148b	12q13.13	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-149	2q37.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-15b	3q25.33	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-150	19q13.33	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-153	2q35/7q36.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-154	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-181c	19p13.12	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-184	15q25.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-187	18q12.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-18a	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-18b	Xq26.2	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-192	11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-194	1q41/11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-195*	17p13.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-196a-3p	17q21.32/12q13.13	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

Tabla suplementaria 1. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio. (Continuación).

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-199a-3p	19p13.2/1q24.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-199b-3p	9q34.11	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-199a-5p	19p13.2/1q24.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-199b-5p	9q34.11	DOWN	Garzia <i>et al.</i> , 2009
hsa-miR-19a	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-204	9q21.12	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-206	6p12.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
		DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-208a-3p	14q11.2	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-21	17q23.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-214	1q24.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-214*	1q24.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-216	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
		UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-217	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
		UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-218	4p15.31/5q34	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-219a-2	9q34.11	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-22	17p13.3	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-23a	19p13.12	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-27a	19p13.12	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-299-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-3183	17p13.3	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-3202	Xq28	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-323a-3p	14q32.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-323a-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-324-3p	17p13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-324-5p	17p13.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-328	16q22.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-329	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-330	19q13.33	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-331	12q22	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-338-3p	17q25.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-338-5p	17q25.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-340	5q35.3	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-346	10q23.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-34a	1p36.22	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-34a*	1p36.22	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-3651	9q22.31	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-3665	13q22.3	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-369-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-370	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-376c	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-377*	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-378a	5q32	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-379	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-381	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-382	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-383	8p22	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

Tabla suplementaria 1. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio. (Continuación).

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-409-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-410	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-411	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-411*	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-422a	15q22.31	UP DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013 Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-425	3p21.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-431*	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-432	14q32.2	DOWN DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013 Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-433	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-449	5q11.2	DOWN	Li <i>et al.</i> , 2016
hsa-miR-4518	16p11.2	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-485-3p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-485-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-487a	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-487b	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-490-3p	7q33	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-490-5p	7q34	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-491	9p21.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-494	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-495	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-497	17p13.1	UP DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013 Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-500a	Xp11.23	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-5010	17q21.2	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-504	Xq26.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-5096	ND	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-539	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-5689	6p24.3	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-574-3p	4p14	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-582	5q12.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-592	7q31.33	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-632	17q11.2	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-647	20q13.33	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-650	22q11.22	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-654	14q32.31	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-665	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-7	15q25.3/19p13.3/9q21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-758	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-767-5p	Xq28	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-770-5p	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-873	9p21.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-874	5q31.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-885-5p	3p25.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-9	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN DOWN	Fiaschetti <i>et al.</i> , 2013 Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-9 AS	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-92a-1	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-92b	1q22	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-93*	7q22.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-935	19q13.42	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-95	4p16.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

11.2 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A ADULTOS

Tabla suplementaria 2. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio que usaba como controles a adultos.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-mir-124	20p23.1/8q12.3/8p23.1	DOWN	Pierson <i>et al.</i> , 2008
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-127-3p	14q32.2	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-128a	2q21.3	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-129-5p	11p11.2/7q32.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-133b	6p12.2	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-mir-138	16q13.3/3p21.32	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-139-5p	11q13.4	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-148b	12q13.13	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-149	2q37.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-15b	3q25.33	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-mir-150	19q13.33	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-153	2q35/7q36.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-181c	19p13.12	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-192	11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-192	11q13.1	DOWN	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-mir-194	1q41/11q13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-19a*	13q31.3	UP	Ferretti <i>et al.</i> , 2009
hsa-mir-204	9q21.12	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-206	6p12.2	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
		DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-miR-21	17q23.1	UP	Grunder <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-216	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-217	2p16.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-mir-218	4p15.31/5q34	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-323a-3p	14q32.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-324-3p	17p13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-328	16q22.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-330	19q13.33	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-331	12q22	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-338-3p	17q25.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-33a	22q13.2	UP	Northcott <i>et al.</i> , 2009
hsa-miR-340	5q35.3	UP	Yang <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-383	8p22	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-mir-422a	15q22.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-425	3p21.31	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-432	14q32.2	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-491	9p21.3	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-497	17p13.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-500a	Xp11.23	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-582	5q12.1	UP	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-miR-654	14q32.31	DOWN	Dai <i>et al.</i> , 2017
hsa-mir-9	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010
hsa-mir-9_AS	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN	Venkataraman <i>et al.</i> , 2010

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobreexpresión del miRNA en comparación con los controles

11.3 MICRORNAS SIGNIFICATIVOS USANDO COMO CONTROLES A NIÑOS

Tabla suplementaria 3. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio que usaba como controles a niños.

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-105	Xq28	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-106b	7q22.2	UP	Ka-Wai Li <i>et al.</i> , 2015
hsa-miR-1207-5p	8q24.21	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-122	18q21.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-1224-5p	3q27.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-124	20p23.1/8q12.3/8p23.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-1244	12p13.2/12p13.31/ 2q37.1/5q23.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-125b-1*	11q24.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-127-3p	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-127-5p	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-1283	19q13.42	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-128	2q21.3/3p22.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-129-5p	11p11.2/7q32.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-129*	11p11.2/7q32.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-129-3p	11p11.2/7q32.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-134	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-135b	1q32.1	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-138	16q13.3/3p21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-138-5p	16q13.3/3p21.32	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-138-1*	3p21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-138-2*	16q13.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-139-3p	11q13.4	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-146b	10q24.32	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-154	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-184	15q25.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-187	18q12.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-18a	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-18b	Xq26.2	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-195*	17p13.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-196a-3p	17q21.32/12q13.13	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-199a-3p	19p13.2/1q24.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
	9q34.11	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-199a-5p	19p13.2/1q24.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
	9q34.11	DOWN	Garzia <i>et al.</i> , 2009
hsa-miR-19a	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-206	6p12.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-208a-3p	14q11.2	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-21	17q23.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-214	1q24.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-214*	1q24.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-216a	2p16.1	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
		UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-217	2p16.1	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-219a-2	9q34.11	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-22	17p13.3	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-23a	19p13.12	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-27a	19p13.12	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-299-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-3183	17p13.3	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-3202	Xq28	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-323a-3p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

Tabla suplementaria 3. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio que usaba como controles a niños. (Continuación).

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-323a-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-324-5p	17p13.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-329	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-338-5p	17q25.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-340	5q35.3	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-346	10q23.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-34a	1p36.22	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-34a*	1p36.22	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-3651	9q22.31	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-mir-3665	13q22.3	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-369-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-370	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-376c	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-377*	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-378a	5q32	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-379	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-381	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-382	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-383	8p22	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-409-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-410	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-411	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-411*	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-422a	15q22.31	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-431*	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-432	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-433	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-449	5q11.2	DOWN	Li Y <i>et al.</i> , 2016
hsa-miR-4518	16p11.2	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-485-3p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-485-5p	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-487a	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-487b	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-490-3p	7q33	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-490-5p	7q34	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-494	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-495	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-497	17p13.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-5010	17q21.2	DOWN	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-mir-504	Xq26.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-5096	ND	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-mir-539	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-5689	6p24.3	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-574-3p	4p14	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-592	7q31.33	UP	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-mir-647	20q13.33	UP	Zhang <i>et al.</i> , 2018
hsa-miR-650	22q11.22	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-665	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-7	15q25.3/19p13.3/9q21.32	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-758	14q32.31	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-767-5p	Xq28	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-770-5p	14q32.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-873	9p21.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobreexpresión del miRNA en comparación con los controles

Tabla suplementaria 3. miRNAs diferencialmente expresados en Meduloblastoma pediátrico descritos por al menos un estudio que usaba como controles a niños. (Continuación).

MicroRNA	Localización	Expresión (todos VS controles)	Referencia
hsa-miR-874	5q31.2	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-885-5p	3p25.3	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-9	1q22/5q14.3/15q26.1	DOWN	Fiaschetti <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-92a-1	13q31.3	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-miR-92b	1q22	DOWN	Birks <i>et al.</i> , 2011
hsa-miR-93*	7q22.1	UP	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-935	19q13.42	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013
hsa-mir-95	4p16.1	DOWN	Lucon <i>et al.</i> , 2013

La expresión DOWN hace referencia a sub expresión del miRNA en pacientes de Meduloblastoma pediátrico frente a controles sanos. UP en cambio, se refiere a la sobre expresión del miRNA en comparación con los controles

11.4 PREDICCIÓN DE GENES DIANA Y ANÁLISIS DE RUTAS

Tabla suplementaria 4. Conjunto de genes de la ruta WNT regulados por los microRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p

WNT SIGNALING PATHWAY - <i>Homo sapiens</i> (human)				
<i>entrez-gene ID</i>	<i>entrez-gene name</i>	hsa-mir-138-5p	hsa-mir-216a-5p	suma de microRNAs
4609	MYC			0
5663	PSEN1			0
90665	TBL1Y			0
4775	NFATC3			0
5176	SERPINF1			0
10297	APC2			0
595	CCND1			0
54361	WNT4			0
102800317	LOC400927- CSNK1E			0
8312	AXIN1			0
6932	TCF7	X		1
5567	PRKACB			0
8321	FZD1			0
8322	FZD4		X	1
8323	FZD6			0
8324	FZD7			0
81029	WNT5B			0
9350	CER1			0
8840	WISP1			0
3725	JUN			0
122011	CSNK1A1L	X		1
4772	NFATC1			0
4773	NFATC2			0
56998	CTNNBIP1			0
147111	NOTUM			0
4776	NFATC4			0
7855	FZD5		X	1
89780	WNT3A			0
51384	WNT16			0
2932	GSK3B			0
2239	GPC4			0
5579	PRKCB			0
23236	PLCB1			0
25805	BAMBI			0
5330	PLCB2			0
5331	PLCB3			0
166336	PRICKLE2		X	1
8313	AXIN2			0
1487	CTBP1			0
4316	MMP7			0
144165	PRICKLE1			0
6885	MAP3K7		X	1
8945	BTRC			0
5879	RAC1			0
5880	RAC2			0
5881	RAC3			0

Tabla suplementaria 4. Conjunto de genes de la ruta WNT regulados por los microRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p. (Continuación).

WNT SIGNALING PATHWAY - <i>Homo sapiens</i> (human)				
<i>entrez-gene ID</i>	<i>entrez-gene name</i>	hsa-mir-138-5p	hsa-mir-216a-5p	suma de microRNAs
9978	RBX1			0
6907	TBL1X	X		1
57216	VANGL2	X	X	2
9475	ROCK2	X		1
8454	CUL1			0
29964	PRICKLE4			0
50964	SOST			0
6422	SFRP1			0
6423	SFRP2			0
6424	SFRP4			0
6425	SFRP5			0
815	CAMK2A			0
8325	FZD8			0
816	CAMK2B			0
8326	FZD9			0
10023	FRAT1			0
7976	FZD3			0
818	CAMK2G			0
7471	WNT1			0
7472	WNT2			0
7473	WNT3			0
7474	WNT5A			0
7475	WNT6			0
7476	WNT7A			0
7477	WNT7B			0
7478	WNT8A			0
7479	WNT8B			0
7480	WNT10B			0
7481	WNT11			0
7482	WNT2B			0
7483	WNT9A			0
7484	WNT9B			0
1855	DVL1			0
1856	DVL2	X		1
64321	SOX17			0
324	APC			0
64840	PORCN			0
6477	SIAH1			0
57680	CHD8			0
817	CAMK2D			0
5535	PPP3R2	X		1
5467	PPARD	X		1
6500	SKP1			0
79718	TBL1XR1			0
23401	FRAT2			0
1387	CREBBP			0
6934	TCF7L2			0
22943	DKK1			0

Tabla suplementaria 4. Conjunto de genes de la ruta WNT regulados por los microRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p. (Continuación).

WNT SIGNALING PATHWAY - <i>Homo sapiens</i> (human)				
<i>entrez-gene ID</i>	<i>entrez-gene name</i>	hsa-mir-138-5p	hsa-mir-216a-5p	suma de microRNAs
8061	FOSL1			0
894	CCND2			0
896	CCND3			0
387	RHOA			0
5332	PLCB4			0
1857	DVL3	X		1
5530	PPP3CA			0
7157	TP53			0
5532	PPP3CB			0
5533	PPP3CC			0
5534	PPP3R1			0
85407	NKD1			0
85409	NKD2			0
27121	DKK4			0
1452	CSNK1A1			0
1454	CSNK1E			0
81839	VANGL1		X	1
1457	CSNK2A1			0
1459	CSNK2A2			0
1460	CSNK2B			0
8607	RUVBL1			0
11197	WIF1			0
5566	PRKACA			0
80319	CXXC4			0
5568	PRKACG	X		1
80326	WNT10A			0
4040	LRP6			0
4041	LRP5			0
5578	PRKCA			0
11211	FZD10			0
23500	DAAM2	X		1
5582	PRKCG			0
59343	SENP2			0
1488	CTBP2			0
23002	DAAM1			0
1499	CTNNB1			0
27101	CACYBP			0
5599	MAPK8	X		1
5601	MAPK9			0
283106	CSNK2A3			0
23291	FBXW11			0
2535	FZD2			0

Tabla suplementaria 4. Conjunto de genes de la ruta WNT regulados por los microRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p. (Continuación).

WNT SIGNALING PATHWAY - <i>Homo sapiens</i> (human)				
<i>entrez-gene ID</i>	<i>entrez-gene name</i>	hsa-mir-138-5p	hsa-mir-216a-5p	suma de microRNAs
51176	LEF1			0
4007	PRICKLE3			0
83439	TCF7L1	X		1
2033	EP300			0
27123	DKK2			0
51701	NLK			0
4088	SMAD3			0
4089	SMAD4	X		1
27130	INVS			0
5602	MAPK10			0

Tabla suplementaria 5. Conjunto de genes de la ruta Hedgehog regulados por los microRNAs hsa-miR-138-5p y hsa-miR-216a-5p.

HEDGEHOG SIGNALING PATHWAY-<i>Homo sapiens</i> (human)				
<i>entrez-gene ID</i>	<i>entrez-gene name</i>	hsa-mir-138-5p	hsa-mir-216a-5p	suma de microRNAs
8452	CUL3		X	1
91653	BOC			0
8454	CUL1			0
23432	GPR161			0
64399	HHIP			0
132884	EVC2			0
408	ARRB1			0
409	ARRB2			0
1455	CSNK1G2			0
156	GRK2			0
157	GRK3			0
50846	DHH			0
2736	GLI2			0
122011	CSNK1A1L	X		1
1452	CSNK1A1			0
1453	CSNK1D			0
1454	CSNK1E			0
2735	GLI1			0
1456	CSNK1G3			0
2737	GLI3			0
53944	CSNK1G1			0
2619	GAS1			0
102800317	LOC400927- CSNK1E			0
5566	PRKACA			0
5567	PRKACB			0
5568	PRKACG	X		1
57154	SMURF1	X		1
8643	PTCH2			0
4036	LRP2			0
6469	SHH			0
339745	SPOPL			0
2121	EVC			0
6608	SMO			0
595	CCND1			0
596	BCL2		X	1
8405	SPOP		X	1
3549	IHH			0
5727	PTCH1	X		1
51684	SUFU	X		1
64750	SMURF2			0
8945	BTRC			0
2932	GSK3B			0
894	CCND2			0
11127	KIF3A			0
50937	CDON	X		1
23291	FBXW11			0
374654	KIF7			0