

Ácidos ribonucleicos no codificantes: hacia la era de la medicina personalizada

Noncoding ribonucleic acids: Stepping into the era of personalized medicine

David De Luca¹ y Adriana Rinflerch²

RESUMEN

Los ácidos ribonucleicos (ARN) son moléculas que clásicamente transmiten la información codificada en el núcleo celular para traducirse a proteínas con diversas funciones. Sin embargo, existe una gran variedad de ARN (microARN, miARN, LncARN, ácido ribonucleico no codificante) capaces de regular diferentes funciones y bloquear o activar la transcripción celular, pero que no tienen la capacidad de traducirse a proteínas. Estos ARN conocidos como no codificantes, fueron descubiertos en los últimos años y están asociados a diferentes enfermedades tanto inmunológicas como neoplásicas de forma específica. Además, se plantean como una herramienta de utilidad diagnóstica con alta especificidad, por lo que se espera que revolucionen los métodos actualmente utilizados en el ámbito médico (*Dermatol. Argent.*, 2015, 21 (4): 254-263).

Palabras clave:

*microARN, miARN,
LncARN,
ácido ribonucleico
no codificante,
epigenética.*

ABSTRACT

The ribonucleic acids (RNA) are molecules classically involved in the transmission of the information encoded in the nucleus, which are translated to proteins with different functions. However, there is a great variety of RNA (microRNA, miRNA, LncRNA, non-coding-RNA) capable of regulating several cellular mechanisms and blocking or activating the transcription, but they cannot be translated into proteins. These kind of RNA are known as non-coding, they were recently discovered and they are related to different immunological and neoplastic diseases. Moreover, non-coding-RNAs could become a high specificity diagnostic tool, so it is expected that they will improve the methods currently used in medicine (*Dermatol. Argent.*, 2015, 21 (4): 254-263).

Keywords:

*microRNA, miRNA,
LncRNA,
non-coding-RNA,
epigenetics.*

Fecha de recepción: 25/11/2015 | Fecha de aprobación: 25/12/2015

¹ Médico asociado al Servicio de Dermatología del Hospital Italiano de Buenos Aires

² Licenciada en Genética, doctora en Ciencias Biológicas, coordinadora del sector de Dermatología Experimental del Hospital Italiano de Buenos Aires

Correspondencia: David De Luca. daviddeluca@gmail.com

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
RISC	<i>RNA-induced silencing complex</i>
ncARN	Ácido ribonucleico no codificante
microARN o miARN	Ácido ribonucleico no codificante corto
LncARN	Ácido ribonucleico no codificante largo
ARNasa Drosha	Endorribonucleasa de ARN doble cadena
DGCR8	<i>DiGeorge syndrome chromosomal region 8</i>
ARNsa Dicer	Endorribonucleasa de ARN doble cadena
GW182/TNRC6	<i>Trinucleotide repeat containing 6 protein associated</i>
MITF	<i>Microphthalmia-associated transcription factor</i>
Wnt	<i>Wingless + Integration 1</i>
BMP	<i>Bone morphogenetic proteins</i>
ANCR	ncARN antidiferenciación
TINCR	ncRNA inductor de diferenciación tisular
TGFβ	Factor de crecimiento tumoral beta
PKCε	Proteína quinasa C ε
MEK1	<i>Map/Erk kinase-1</i>
NET	Necrólisis epidérmica tóxica
Fas	<i>Apoptosis stimulating fragment</i>
bcl-2	<i>B cell lymphoma 2</i>
CCND1	Ciclina D1
AKT	AK, nombre de la especie muria que desarrolla timomas
FOXO3	<i>Forkhead box O</i>
GSK3α	Glucógeno sintasa quinasa 3 alfa
TFAP2C	<i>Transcription factor activating protein 2 gamma</i>
CBC	Carcinoma basocelular
CEC	Carcinoma espinocelular
GLI1	<i>Glioma-associated oncogene homolog</i>
ERK	<i>Extracellular signal regulated kinase</i>
MAPK	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
TOX	<i>Thymus high mobility group box protein</i>
ckIT	<i>Kit Hardy Zuckerman feline sarcoma viral oncogene homolog</i>
BRAF	<i>B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma</i>
BANCR	<i>BRAF-activated non-protein coding RNA</i>
SPRY4	<i>Protein sprouty homolog 4 inhibitor</i>
HOTAIR	<i>HOX transcript antisense RNA</i>
ANRIL	ncARN antisentido en el locus INK4
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
PASI	<i>Psoriasis Area Severity Index</i>

Introducción

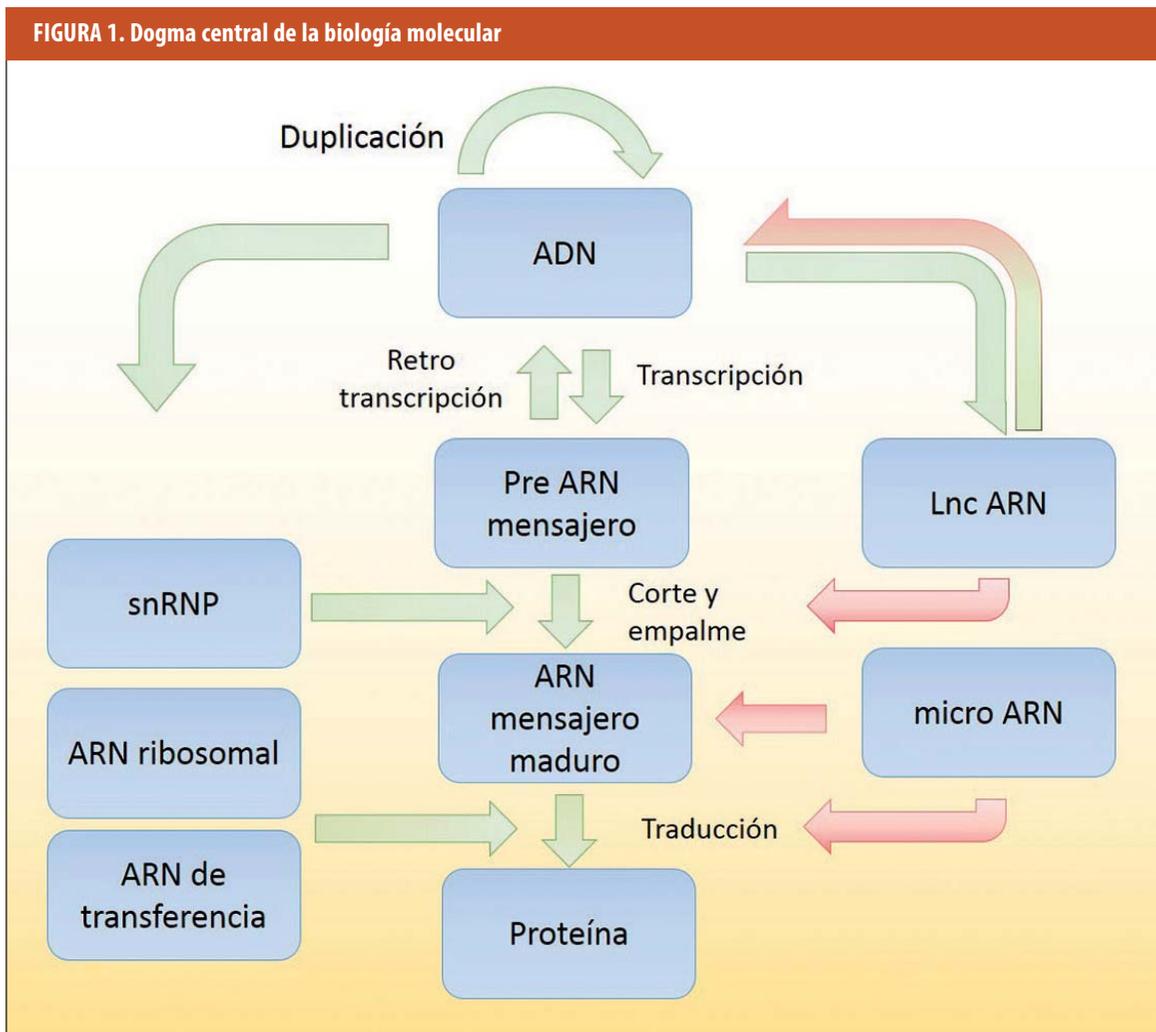
El famoso dogma central de la biología molecular explica el flujo de información genética que ocurre dentro de un sistema biológico. Clásicamente este dogma postula que el ADN se transcribe a ARN y este último se traduce a proteínas.¹ Sin embargo, en los últimos años, con el advenimiento de nuevas técnicas de análisis molecular, se observó que el ADN presenta gran cantidad de información que no tiene como finalidad la síntesis proteica. Entre los descubrimientos más recientes se encuentran los ARN no codificante, moléculas capaces de regular la transcripción y la traducción a diferentes niveles. Se describe en la figura 1 el dogma central de la biología molecular extendida.

¿Qué es un ARN no codificante?

Los genes codificados en el ADN son transcritos a ARN y exportados al citoplasma como ARN mensajero, donde son traducidos a proteínas. Cada etapa es llevada a cabo por complejos proteicos-nucleotídicos diferentes.

La expresión de un conjunto de genes específicos determina un linaje celular, y esto es regulado a diferentes niveles y por diversos mecanismos. En el núcleo de las células humanas se transcriben ARN que no se traducirán a proteínas, sino que tienen funciones reguladoras, como los ARN no codificantes (ncARN) cortos y largos, microARN y LncARN, respectivamente.

El microARN se transcribe desde el ADN como una secuencia lineal de ARN llamada primicroARN, que inmediatamente es procesado por la ARNasa Drosha y su cofactor DGCR8, dando lugar al premicroARN, un bucle de doble cadena de aproximadamente 70-100 nucleótidos. Este bucle es exportado del núcleo al citoplasma por la proteína exportina-5 y allí es reconocido por la ARNasa Dicer, que elimina el bucle generando los miARN de doble cadena, compuestos por 18 a 22 nucleótidos. Ambas hebras del miARN se separan y la hebra conocida como madura se incorpora a un complejo proteico llamado RISC, que está formado por la proteína Argonauta y los cofactores GW182/TNRC6. Una vez unidos, el complejo RISC y miARN reconocen una secuencia en el ARN mensajero citoplasmático por apareamiento de bases. Esta interacción resulta en un bloqueo de la traducción, en una escisión del ARN mensajero o en ambas. El miARN es capaz de dificultar, de forma selectiva, la traducción de su ARN complementario. De esta manera, los miARN contribuyen a silenciar determinados genes en célula específica en una etapa determinada del desarrollo y se estima que



Referencias: Flecha verde: estimulación, flecha roja: inhibición. En este gráfico no se hace referencia a las acciones de las proteínas sobre el ADN y el ARN.

un mismo miARN pueda interferir en la expresión de cientos de genes.² En la figura 2 se grafican la biogénesis y los mecanismos de acción de los miARN.

Por otro lado, los LncARN son secuencias de más de 200 pares de bases (pb) de ARN, cuyas estructuras tridimensionales, específicas de cada secuencia de LncARN, le permiten silenciar o activar la expresión de genes, y esto puede ocurrir a nivel de la cromatina (ADN) o también durante el procesamiento del ARN mensajero, interactuando con la maquinaria de corte y empalme. Su función es modular, ya sea favoreciendo o evitando la accesibilidad a la cromatina por parte de proteínas, como los factores de transcripción o los componentes de la maquinaria de transcripción en general, o influyendo en la incorporación de un intrón a la proteína a sintetizar. Los LncARN han sido recientemente descubiertos y su expresión se correlaciona a fenotipos normales u oncogénicos,

tanto primario como metastásico.^{3,5} En la figura 3 se grafican la biogénesis y los mecanismos de acción de los LncARN.

Mediante técnicas moleculares de última generación, con las que se han logrado extensivos análisis genómicos, identificaron que en las células humanas, el 70% de los ARN mensajeros tiene un ncARN específico, listo para regular su expresión.⁶ Estos ncARN parecen actuar tanto en la célula en la que son sintetizados como a distancia; premicroARN, miARN y LncARN son factibles de aislar de fluidos corporales como sangre, suero, orina y esputo. La estabilidad de los ncARN en estos fluidos se debe a que son transportados por exosomas, microvesículas o complejos proteicos específicos. Esta característica nos permite idear a los ncARN como biomarcadores potenciales de enfermedades y también como herramienta terapéutica, dado su sistema simple de distribución.⁷

TABLA 1. Expresión de microRNA en enfermedades dermatológicas

	miARN implicado	Efecto a nivel celular
Psoriasis	↓ miR-424	Proliferación exacerbada de queratinocitos
Dermatomiositis	↓ miR-223	Acantosis
Esclerodermia	↓ miR-29 ↓ miR-196a	Síntesis exagerada de cadena alfa del colágeno I y III
Necrólisis epidérmica tóxica	↑ miR18a-5p	Apoptosis de queratinocitos
Melanoma	↑ miR-193b ↑ miR-221 ↑ miR-222	Proliferación celular
	↓ miR-125b ↓ miR-137	Inhibición apoptosis
	↑ miR-182 ↑ miR-149	Metástasis
Carcinoma basocelular	↓ miR-203	Génesis del CBC
Carcinoma espinocelular	↓ miR-214 ↓ miR-124	Proliferación celular
	↓ miR-223	Proliferación de linfocitos T CD4

FIGURA 2. Biogénesis y mecanismos de acción de los microARN

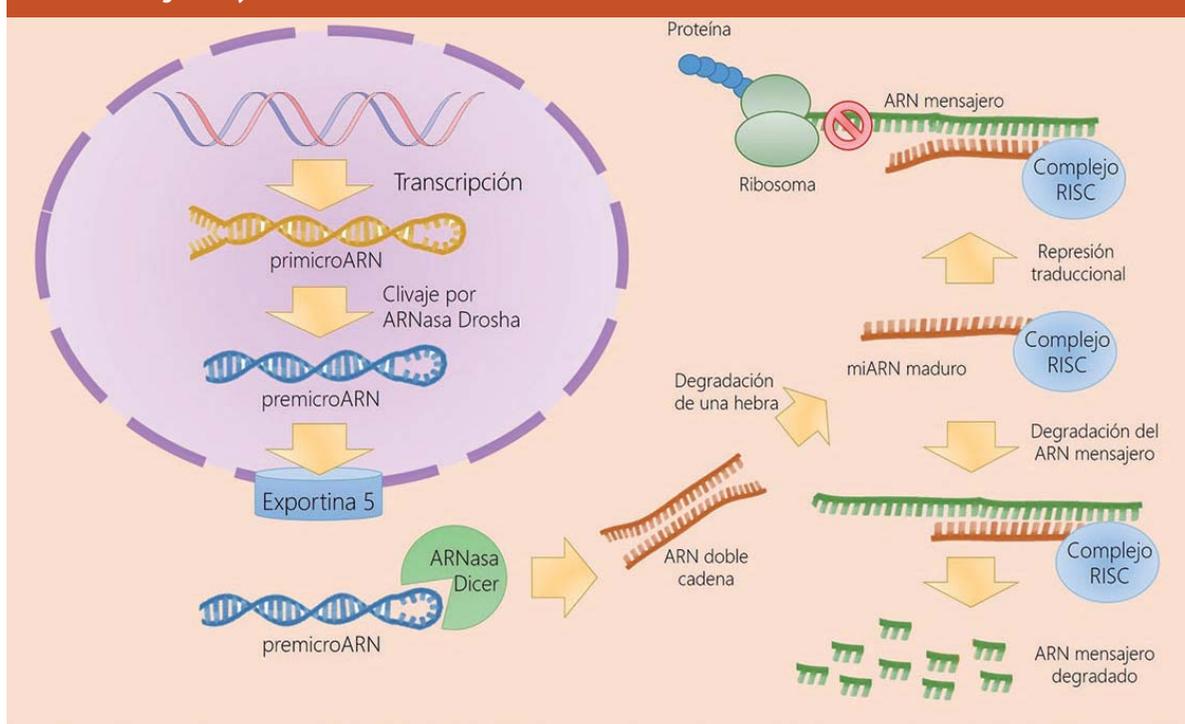
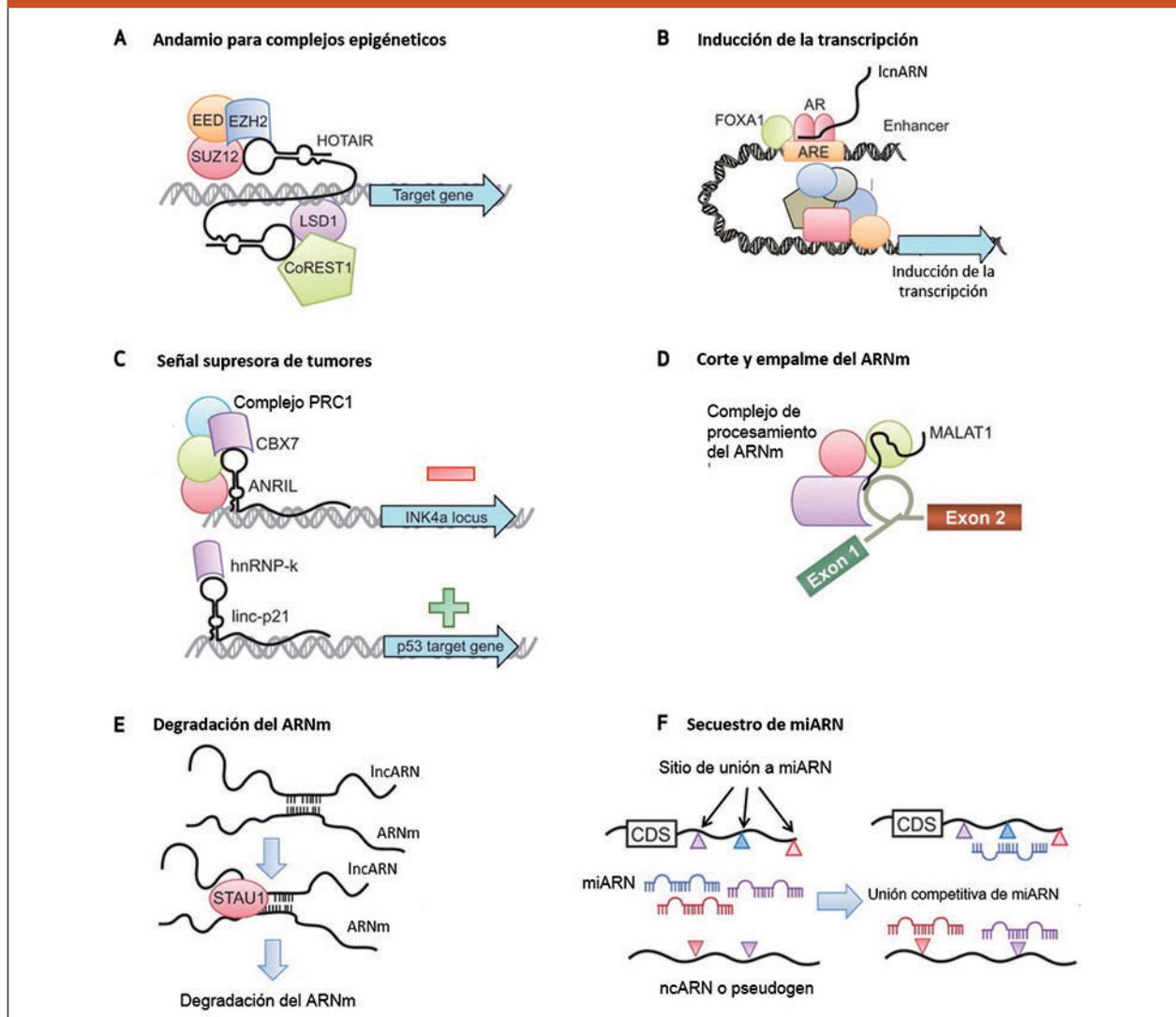


FIGURA 3. Mecanismos de acción de los lncARN (adaptado de Prensner JR y Chinnaiyan A.M., *Cancer Discovery*, 2011, 1: 391-407).



- A. HOTAIR es un lncARN que sirve de andamio para coordinar la epigenética a través de los complejos represores de la transcripción como LSD1/CoREST.
- B. lncARN puede facilitar la transcripción de señales hormonales a través de complejos linaje específicos como FOXA1 y AR.
- C. lncARN puede tener efecto represor o inductor de la transcripción de genes supresores de tumores.
- D. MALAT1 es un lncARN que contribuye al procesamiento postranscripcional de los ARNm.
- E. La interacción lncARN-ARNm en secuencias homólogas sirve para degradar al ARNm mediado por STAU1.
- F. Diferentes moléculas de ARN como ARNm, ncARN y los pseudogenes actúan como "esponjas" de miARN. Se genera un microambiente competitivo basado en la degradación de los miARN específicos de cada transcripto, lo que conlleva al control de la expresión génica. (CDS: secuencia codificante).

Aplicaciones de ncARN en dermatología Desarrollo cutáneo

En las células madres epidérmicas, miR-125b se expresa y reprime la diferenciación celular, manteniendo su característica proliferativa. Mientras que la diferenciación epidérmica se encuentra también bajo control de ncRNA. MITE, el gen maestro que controla la diferenciación o

proliferación de los melanocitos, es regulado por microARN y, a su vez, MITF regula la transcripción de otros microARN. Otro ejemplo corresponde a la maduración del queratinocito de la capa basal a la suprabasal, que ocurre mediante la inhibición de p63, producida por miR-203. La sobreexpresión de este miARN genera una epidermis fina.⁸

En la regulación del ciclo del folículo piloso, el miR-31 se

encuentra aumentado sólo en la fase anágena del ciclo, tanto en la epidermis como en el epitelio folicular y la papila dérmica. La expresión de miR-31 está relacionado con cambios en la expresión de genes como Wnt, BMP y queratinas del pelo.⁹

Paralelamente, y no de manera independiente a los microARN, los LncARN regulan la homeostasis de la piel normal utilizando diferentes estrategias.⁵ Durante el estadio indiferenciado de los queratinocitos se encuentra elevada la expresión del LncARN llamado ANCR,¹⁰ mientras que TINCR es esencial para mantener el estado diferenciado de los queratinocitos.¹¹ La sobreexpresión, el silenciamiento o pérdida de función de los ncARN están directamente relacionados con algunas patologías, cuyo efecto en el organismo dependerá de los genes incorrectamente regulados y de las vías afectadas.

Fisiopatología de enfermedades inflamatorias

En la esclerodermia, la producción aumentada de TGFβ se acompaña de la síntesis exagerada de colágeno tipo I y III en los fibroblastos, y esto se asocia a la represión de los miR-29 y 196a. Al transfectar in vitro a los fibroblastos con estos microARN, la expresión normal de estos inhibidores genera el bloqueo de la síntesis de las cadenas alfa de colágeno, lo cual reduce el depósito de estas fibras en la dermis.¹²

En la dermatomiositis existe proliferación de queratinocitos asociados al aumento de la actividad de PKCε y la reducción de los niveles de miR-223. Fue demostrado que al restablecer la actividad del microRNA, se inhibe la actividad enzimática de PKC junto con la acantosis que puede observarse en la enfermedad.¹³

Respecto de la psoriasis, se observaron varias asociaciones entre alteración en la expresión de microARN e hiperproliferación de los queratinocitos. Por ejemplo, la expresión de miR-424 se encuentra disminuida en las placas de psoriasis. Este microARN regula de manera negativa la vía de MEK1 y ciclina E, que normalmente juegan un rol crucial en la transición de la fase G1 a S del ciclo celular.¹⁴

En la NET, la sobreexpresión de Fas y Fas ligando genera la activación masiva de la vía extrínseca de la apoptosis en los queratinocitos. La sobreactivación de Fas ligando se acompaña del aumento de miR18a-5p y ambos reprimen la expresión de moléculas antiapoptóticas como bcl-2.¹⁵

Poco se conoce actualmente respecto de la función específica de cada LncARN; sin embargo, un trabajo recientemente publicado por Tsoi *et al.* demostró diferencias significativas en el patrón de LncARN de piel con psoriasis respecto de piel normal.¹⁶ Otros grupos señalan que a través de paneles asociados de proteínas y LncARN específicos se pueden identificar patologías autoinmunes y a las células implicadas en la respuesta inmune anómala, lo cual abre las puertas a un diagnóstico preciso de este tipo de patologías.¹⁷

Fisiopatología de enfermedades oncológicas

Los microARN juegan un rol fundamental en la oncogénesis a través de dos mecanismos. La pérdida selectiva de ciertos microARN genera disminución de la actividad supresora tumoral celular, por lo que se acumulan los productos de los protooncogenes. Por otro lado, la acumulación de microARN prooncogénicos genera la pérdida de la actividad supresora de tumores. En ambos casos se activan de forma desequilibrada la proliferación y el ciclo celular.¹⁸

En relación con los CBC y CEC, la maquinaria de regulación de microARN se encuentra sobreexpresada respecto de piel sana. En las capas suprabasales de la epidermis normal el miR-203 se halla expresado, mientras que en el CBC la expresión se presenta reducida. Este descenso de miR-203 se correlaciona en forma inversa con la expresión de GLI1, factor de transcripción vinculado con la génesis del CBC. En el CEC, la expresión del miR-214 y miR-124 se encuentra inhibida y lo que libera la acción de las quinasas ERK1 y ERK2 de la vía de MAPK.¹⁹

El balance inmunológico vinculado con los perfiles de los linfocitos CD4 y CD8 se encuentran regulados de manera específica por los microRNA. En condiciones normales, miR-223 suprime la actividad del gen TOX, de tal manera que regula la proporción de linfocitos T CD4/CD8. El producto del gen TOX es un factor de transcripción que se expresa en el timo y su producto es necesario para que los linfocitos T maduren y adquieran el marcador CD4. Una vez alcanzado dicho marcador, TOX no se vuelve a expresar. En la micosis fungoide, la actividad de miR-223 está suprimida, de tal manera que TOX se activa y se genera un desequilibrio a favor de la formación de linfocito T CD4. De forma experimental, la transfección con vectores virales que portan la informa-

ción perdida de miR-223 en células de linfoma cutáneo primario, inducen la apoptosis de las células T CD4 en cuestión.²⁰

Particularmente, el cáncer de piel tipo melanoma ha sido el más estudiado y se sabe que existen decenas de microARN involucrados en diferentes etapas del desarrollo neoplásico. Algunos ejemplos conocidos de interacción microARN / ARN mensajero son el miR-137 y MITE, miR-193b y CCND1, miR-125b y AKT, miR-221 y miR222 y cKIT, entre otros. En la génesis de las metástasis algunas dianas celulares afectadas por los miARN son miR-182 y FOXO3, miR-149 y GSK3 α y miR-214 y TFAP2C.²¹ En la tabla 1 se resumen algunos miRNA asociados a patología dermatológica.

Los LncARN son indirectamente desregulados a consecuencia de mutaciones, silenciamientos o sobreexpresión de genes que codifican proteínas, por ejemplo mutaciones activantes de BRAF (BRAV600E) inducen la expresión del LncARN BANCR en melanoma. El silenciamiento experimental de BANCR en células de melanoma cambia los niveles de expresión de 88 genes, entre los que se encuentran genes involucrados en la migración y quimiotaxis.²² BANCR también fue indicado como regulador del proceso de transición del estadio epidérmico a mesenquimal propio de la proliferación oncogénica.²³

También relacionado con la capacidad proliferativa de las células de melanoma se encontró sobreexpresado el LncARN SPRY4-ITI en líneas celulares. En condiciones normales la proteína SPRY4 es un inhibidor de la vía MAPK, por lo que tiene una acción supresora de tumores y la expresión de SPRY4-ITI inhibe la actividad de SPRY4. También hay evidencias que sustentan la teoría respecto de que SPRY4-ITI regula el proceso de transición del estadio epidérmico a mesenquimal a través de la regulación de E-cadherina y vimentina.²⁴

HOTAIR es el nombre de otro de los LncARN relacionados con la progresión e invasión tisular de diversos tumores, entre ellos el melanoma. HOTAIR silencia epigenéticamente la expresión de genes supresores de tumores y favorece, de manera indirecta, la expresión del factor de transcripción STAT3, que al ingresar al núcleo y unirse al ADN transcribe genes antiapoptóticos y relacionados con la proliferación celular. Además, los niveles de expresión de HOTAIR en el tumor correlacionaron con los niveles encontrados en nódulo linfático de pacientes con metástasis de melanoma.³

ANRIL es un LncARN antisentido a la orientación del gen CDKN2A y CDKN2B que codifican p14, p15 y p16, proteínas relacionadas con la proliferación celular y reparación del ADN dañado. ANRIL inhibe la expresión de p14 que, en condiciones normales, bloquea la degradación de p53. Sin p53 presente, no habrá reparación del ADN, por lo que la tasa de mutaciones acumuladas durante la duplicación del material genético será mayor. Por otro lado, p15 y p16 inhiben a las ciclinas CDK4 y CDK6. Si la expresión de ambas proteínas se encuentra reprimida por ANRIL, entonces CDK4 se une a la ciclina D y fosforila la proteína del retinoblastoma (pRB), que libera los factores de transcripción que promueven la transición G1 a S y la proliferación de melanocitos.²⁵

Aplicaciones diagnósticas

El dosaje de los ncARN tanto microARN como LncARN en sangre promete ser una técnica de detección de enfermedades en el futuro. Como ventajas, los ncRNA son una estrategia de respuesta biológica más veloz que las proteínas, lo que los convierte en biomarcadores más sensibles. Además, los ncARN pueden detectarse en diferentes fluidos como sangre, orina y esputo, y son más estables que otros ARN. Los ncARN en sangre se encuentran empaquetados en exosomas, microvesículas o complejos de proteínas, y resisten mejor la degradación, por lo que pueden ser una fuente de obtención de material para análisis seguro.²⁶ Una de las desventajas a remarcar es la existencia de más de 2.500 microARN y 8.000 LncARN, por lo que la identificación de los cambios en las diferentes enfermedades podría ser muy costoso. Por este motivo, se evalúan actualmente los patrones de cambios de expresión de ciertos ncARN, más que el conjunto total.

En patologías, como es la dermatomiositis, se observó el aumento de miR-21, que además correlaciona con los niveles de IgG de la enfermedad.²⁷ En el caso de la NET, como otras enfermedades en donde el diagnóstico precoz es de gran importancia, los niveles de miR-18a-5p se encuentran elevados y además correlacionan con el porcentaje de compromiso corporal.¹⁵

Los niveles de expresión de miR-223 en la micosis fungoide se suprimen de manera gradual respecto de la progresión de la enfermedad, de tal forma que en los estadios avanzados este microRNA se encuentra en concentraciones reducidas en comparación con los estadios tempranos. En otras enfermedades cutáneas como la dermatitis atópica, se observaron valores estables de miR-223, lo cual

podría otorgar a este marcador cierta especificidad para diagnosticar la micosis fungoide.²⁰

Aunque la concentración de los ncARN no se distribuya de manera homogénea en los diferentes tejidos, el folículo piloso es capaz de actuar como reservorio de ácidos nucleicos propios como de los provenientes de la sangre. Los ncARN presentan una vida media muy baja en el suero, a diferencia de lo que ocurre en el pelo, donde se mantienen intactos durante varios meses. Los cambios temporales en la expresión génica de los ncARN, ya sea de forma fisiológica, inducida por fármacos o por enfermedades, se almacenan de manera lineal a lo largo del folículo piloso. Esta acumulación “en capas” del ncARN en el pelo, otorga una aproximación temporal para reconocer posibles gatillantes de diversas patologías o permite hasta dilucidar con mayor certeza el propio curso natural de una enfermedad. Sin embargo, existen algunas limitaciones respecto del uso de los ncARN pilosos como método diagnóstico, entre ellas las variaciones interindividuales en la concentración y en la vida media de los ncARN, que dificulta la estandarización de estos métodos.²⁸⁻²⁹

Abordaje terapéutico

La aplicación de los microARN con fines terapéuticos puede orientarse al uso de microARN miméticos, es decir similares a los naturales, en el caso que ciertos microARN se encuentren en bajas concentraciones o, en el caso contrario, el uso de inhibidores de microARN o antagomirs, en patologías donde existe una supresión de función celular por exceso de microARN. Por el momento no hay ensayos clínicos en humanos dirigidos a patologías cutáneas con antagomirs o con microARN miméticos. La primera droga antagomir diseñada fue el miravirsén, para el tratamiento de la hepatitis C crónica resistente a otras terapéuticas, en la actualidad en ensayo clínico fase II. Miravirsén es un oligonucleótido antisentido que bloquea a miR-122, molécula necesaria para la traducción de ARN mensajero del virus de la hepatitis C.³⁰ En la actualidad existen algunos estudios preclínicos para el tratamiento de la aterosclerosis con antagomirs antimir-33a/b, que demostraron aumento del HDL colesterol y descenso de VLDL colesterol.³¹ En el caso de los microARN miméticos, se diseñaron nanopartículas de liposomas que contienen miR-34a, que actúa como un microARN con actividad supresor tumoral. Este fármaco, llamado MRX34, se halla en fase I de ensayo clínico.³²

Otro enfoque interesante es el uso de microARN como

predictores de farmacogenómica. En el caso de la psoriasis, Pivarcsi *et ál.* midieron el patrón de 38 microARN en paciente tratados con metotrexato o etanercept que alcanzaron un PASI <50% a las 12 semanas de tratamiento. Los pacientes tratados con metotrexato no demostraron un cambio en la expresión de microARN, independientemente de la respuesta clínica obtenida. En el caso del etanercept, tanto pacientes respondedores como no respondedores presentaron *downregulation* de los microARN. Este estudio demuestra que aún quedan cuestiones por dilucidar acerca del metabolismo de los microARN.³³

Conclusión

Los microARN y los LncARN son secuencias cortas de ARN no codificante con la capacidad de inhibir la expresión génica de manera sutil y específica. La sobreexpresión o represión de estas moléculas está involucrada en múltiples dermatosis, como la psoriasis, la dermatomiositis y el melanoma. En el futuro, tanto los microARN como los LncARN podrán ser una herramienta de uso cotidiano para el diagnóstico de diferentes patologías de forma personalizada, predecir la respuesta a tratamientos, así como aplicarse en patologías resistentes a tratamientos convencionales.

Bibliografía

1. Crick F. Central Dogma of Molecular Biology, *Nature*, 1970, 227: 561-563.
2. Rinfler A. ¿ARN el origen del origen y de la diversidad?, *Rev. Hosp. Ital. Bs. As.*, 2008, 28: 50-52.
3. Tang L., Zhang W., Su B., Yu B. Long noncoding RNA HOTAIR is associated with motility, invasion, and metastatic potential of metastatic melanoma, *Biomed. Res. Int.*, 2013, 2013 251098. doi: 10.1155/2013/251098: 1-7.
4. Qi P., Du X. The long non-coding RNAs, a new cancer diagnostic and therapeutic gold mine, *Mod. Pathol.*, 2013, 26: 155-165.
5. Hombach S., Kretz M. The non-coding skin: Exploring the roles of long non-coding RNAs in epidermal homeostasis and disease, *BioEssays*, 2013, 35: 1093-1100.
6. Katayama S., Tomaru Y., Kasukawa T., Waki K. *et ál.* Antisense transcription in the mammalian transcriptome, *Science*, 2005, 309: 1564-1566.
7. Schwarzenbach H., Nishida N., Calin G.A., Pantel K. Clinical relevance of circulation cell-free microRNAs in cancer, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2014, 11: 145-156.

8. Schneider M.R. MicroRNAs as novel players in skin development, homeostasis and disease, *Br. J. Dermatol.*, 2012, 166: 22-28.
9. Mardaryev A.N., Ahmed M.I., Vlahov N.V., Fessing M.Y. *et ál.* MicroRNA-31 controls hair cycle-associated changes in gene expression programs of the skin and hair follicle, *FASEB J.*, 2010, 24: 3869-3881.
10. Kretz M., Webster D.E., Flockhart R.J., Lee C.S. *et ál.* Suppression of progenitor differentiation requires the long noncoding RNA ANCR, *Genes Dev.*, 2012, 26: 338-343.
11. Kretz M., Siprashvili Z., Chu C., Webster D.E. *et ál.* Control of somatic tissue differentiation by the long non-coding RNA TINCR, *Nature*, 2013, 493: 231-235.
12. Maurer B., Stanczyk J., Jünger A., Akhmetshina A. *et ál.* MicroRNA-29, a key regulator of collagen expression in systemic sclerosis, *Arthritis Rheum.*, 2010, 62: 1733-1743.
13. Inoue K., Jinnin M., Yamane K., Makino T. *et ál.* Down-regulation of miR-223 contributes to the formation of Gottron's papules in dermatomyositis via the induction of PKC ϵ , *Eur. J. Dermatol.*, 2013, 23: 160-167.
14. Ichihara A., Jinnin M., Yamane K., Fujisawa A. *et ál.* MicroRNA-mediated keratinocyte hyperproliferation in psoriasis vulgaris, *Br. J. Dermatol.*, 2011, 165: 1003-1010.
15. Ichihara A., Wang Z., Jinnin M., Izuno Y. *et ál.* Upregulation of miR-18a-5p contributes to epidermal necrolysis in severe drug eruptions, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2014, 133: 1065-1074.
16. Tsoi L.C., Iyer M.K., Stuart P.E., Swindell W.R. *et ál.* Analysis of long non-coding RNAs highlights tissue-specific expression patterns and epigenetic profiles in normal and psoriatic skin, *Genome Biol.*, 2015, 16: 24.
17. Hrdlickova B., Kumar V., Kanduri K., Zhernakova D.V. *et ál.* Expression profiles of long non-coding RNAs located in autoimmune disease-associated regions reveal immunecell-type specificity, *Genome Med.*, 2014, 6: 88.
18. Lujambio A., Lowe S.W. The microcosmos of cancer, *Nature*, 2012, 482: 347-355.
19. Sand M., Sand D., Altmeyer P., Bechara F.G. MicroRNA in non-melanoma skin cancer, *Cancer Biomark*, 2012, 11: 253-257.
20. McGirt L.Y., Adams C.M., Baerenwald D.A., Zwerner J.P. *et ál.* miR-223 regulates cell growth and targets proto-oncogenes in mycosis fungoides/cutaneous T-cell lymphoma, *J. Invest. Dermatol.*, 2014, 134: 1101-1107.
21. Glud M., Gniadecki R. MicroRNAs in the pathogenesis of malignant melanoma, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2013, 27: 142-150.
22. Flockhart R.J., Webster D.E., Qu K., Mascarenhas N. *et ál.* BRAFV600E remodels the melanocyte transcriptome and induces *BANCR* to regulate melanoma cell migration, *Genome Res.*, 2012, 22: 1006-1014.
23. Guo Q., Zhao Y., Chen J., Hu J. *et ál.* BRAF-activated long non-coding RNA contributes to colorectal cancer migration by inducing epithelial-mesenchymal transition, *Oncol. Lett.*, 2014, 8: 869-875.
24. Sun M., Liu X.H., Lu K.H., Nie F.Q. *et ál.* EZH2-mediated epigenetic suppression of long noncoding RNA SPRY4-IT1 promotes NSCLC cell proliferation and metastasis by affecting the epithelial-mesenchymal transition, *Cell Death Dis.*, 2014, 5: e1298.
25. Pasmant E., Laurendeau I., Héron D., Vidaud M. *et ál.* Characterization of a germ-line deletion, including the entire *INK4/ARF* locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of *ANRIL*, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with *ARF*, *Cancer Res.*, 2007, 67: 3963-3969.
26. Jinnin M. Various applications of microRNAs in skin diseases, *J. Dermatol. Sci.*, 2014, 77: 3-8.
27. Shimada S., Jinnin M., Ogata A., Makino T. *et ál.* Serum miR-21 levels in patients with dermatomyositis, *Clin. Exp. Rheumatol.*, 2013, 31: 161-162.
28. Wang Z., Jinnin M., Kudo H., Inoue K. *et ál.* Detection of hair-microRNAs as the novel potent biomarker: evaluation of the usefulness for the diagnosis of scleroderma, *J. Dermatol. Sci.*, 2013, 72: 134-141.
29. Lefkowitz G., Mukhopadhyay A., Cowing-Zitron C., Yu B. The Post-apoptotic fate of RNAs identified through high-throughput sequencing of human hair, *PLoS ONE*, 2011, 6: e27603.
30. Lindow M., Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug, *J. Cell Biol.*, 2012, 199: 407-412.
31. Rayner K.J., Esau C.C., Hussain F.N., McDaniel A.L. *et ál.* Inhibition of miR-33a/b in non-human primates raises plasma HDL and lowers VLDL triglycerides, *Nature*, 2011, 478: 404-407.
32. Hydbring P., Badalian-Very G. Clinical applications of microRNAs. (Version 3), *F1000Res.*, 2013, 2: 136.
33. Pivarcsi A., Meisgen F., Xu N., Stähle M. *et ál.* Changes in the level of serum microRNAs in patients with psoriasis after antitumour necrosis factor- α therapy, *Br. J. Dermatol.*, 2013, 169: 563-570.

Cuestionario de autoevaluación

1. ¿Cuál de los siguientes tipos de ARN tienen funciones reguladoras negativas sobre la traducción de proteínas?

- a. ARN mensajero
- b. ARN no codificantes cortos
- c. ARN ribosomal
- d. ARN de transferencia

2. ¿De qué manera los microARN inhiben la transcripción a nivel celular?

- a. Bloqueo de la unión del ARN polimerasa con el ADN
- b. Bloqueo de la formación del ribosoma
- c. Escisión del ARN mensajero
- d. Degradación de la proteína ya sintetizada

3. El microARN requiere la unión a un grupo de proteínas para llevar a cabo su función reguladora. ¿Cuál es dicha proteína?

- a. Exportina 5
- b. ARNasa Droscha
- c. ARNasa Dicer
- d. Complejo RISC

4. Los LncARN se caracterizan por:

- a. Presentar secuencias cortas de ARN de entre 20 y 30 pares de bases
- b. Presentar solamente acción inhibitoria sobre la maduración del ARN
- c. Permitir el acceso de los factores de transcripción al ADN
- d. No ser posibles de aislar en fluidos corporales

5. En la psoriasis, el miR-424 se encuentra reprimido, por lo tanto el ARN mensajero de la ciclina E no presenta un regulador negativo. Dicho evento se expresa a nivel celular como:

- a. Hiperproliferación celular por inducción del ciclo celular
- b. Hiperproliferación celular por inhibición de la apoptosis
- c. Inmadurez celular por falta de expresión de citoqueratinas
- d. Inmadurez celular por falta de expresión de filagrina

6. La acción prooncogénica de los microARN se asocia al:

- a. Bloqueo de los genes supresores de tumores
- b. Bloqueo de los protooncogenes
- c. Activación de la maquinaria de reparación celular
- d. Represión de factores antiapoptóticos

7. En el melanoma, el desequilibrio en la formación de miRNA conduce a:

- a. Bloqueo de la apoptosis
- b. Reducción en la proliferación celular
- c. Inducción de las metástasis
- d. Reducción de la migración celular

8. ¿Cuál de los siguientes enunciados es correcto respecto de los LncARN en el melanoma?

- a. HOTAIR induce la expresión de genes supresores de tumores
- b. HOTAIR bloquea la acción de STAT3 en el núcleo
- c. ANRIL bloquea la expresión de p14, p15 y p16
- d. ANRIL bloquea la transición del ciclo celular a la fase S

9. ¿Cuál es uno de los motivos por el cual los ncARN son una buena fuente diagnóstica?

- a. La variedad de ncARN es escasa
- b. Los ncARN presentan un tiempo de respuesta biológica más rápida que las proteínas
- c. La identificación de ncARN es económica
- d. La identificación aislada de un ncARN es tan eficiente para el diagnóstico, como la del patrón global de dichas moléculas

10. El abordaje terapéutico desde los microARN se focaliza en:

- a. El bloqueo de microARN en exceso, a través del uso de microARN miméticos
- b. La inducción o reposición de microARN insuficientes, con la utilización de antagomirs
- c. El bloqueo de la maquinaria de síntesis de microARN
- d. Restablecer el balance de los diferentes microARN a nivel celular

Respuestas correctas vol. XXI – N° 3 / 2015

1, a | 2, b | 3, d | 4, b | 5, c | 6, a | 7, d | 8, c | 9, c | 10, d