



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**RNAs LARGOS NO CODIFICANTES
Y SU IMPLICACIÓN EN EL CÁNCER**

**LONG NON-CODING RNAs AND
THEIR IMPLICATION IN CANCER**

Autor: Raquel Rey Pérez

Tutor: Pedro García García

GRADO EN BIOLOGÍA

Julio, 2022

Índice

Resumen:.....	iii
Abstract:.....	iii
Abreviaturas.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 LncRNAs.....	1
1.2 Cáncer.....	2
2. OBJETIVOS.....	3
3. METODOLOGÍA.....	4
4. RESULTADOS.....	5
4.1 Funciones de los lncRNAs.....	5
4.2 Papel de los lncRNAs en el cáncer.....	9
4.2.1 Mantenimiento de las señales proliferativas.....	9
4.2.2 Evasión de supresores de crecimiento.....	10
4.2.3 Evitar la destrucción inmune.....	11
4.2.4 Activador de la inmortalidad replicativa.....	12
4.2.5 Inflamación producida por los tumores.....	13
4.2.6 Activación de invasión y metástasis.....	14
4.2.7 Inducción de angiogénesis.....	15
4.2.8 Inestabilidad y mutación del genoma.....	17
4.2.9 Resistencia a la muerte celular.....	17
4.2.10 Desregulación de la energía celular.....	18
4.3 Implicación de los lncRNAs en el proceso de carcinogénesis.....	19
4.3.1 Carcinoma hepatocelular.....	19
5. CONCLUSIONES.....	27
Referencias bibliográficas.....	28

Resumen:

Se conoce a los RNAs largos no codificantes (lncRNA) como una amplia y diversa clase de moléculas de RNA transcritas que poseen más de 200 nucleótidos y no tienen capacidad de codificación de proteínas. Estas moléculas tienen 4 funciones: señales, señuelos, guías y andamios, además de una gran implicación en el cáncer, una enfermedad en la que algunas de las células del cuerpo se multiplican sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo. En el cáncer, los lncRNAs suelen expresarse de forma aberrante y se relacionan con características de las células cancerígenas: mantenimiento de las señales proliferativas, evasión de supresores de crecimiento, evitar la destrucción inmune, activador de la inmortalidad replicativa, inflamación producida por los tumores, activación de invasión y metástasis, inducción de angiogénesis, inestabilidad y mutación del genoma, resistencia a la muerte celular y desregulación de la energía celular. Uno de los ejemplos más claros aparece en el cáncer hepatocelular (CHC). En él podemos destacar la intervención de tres lncRNAs principales con diferentes funciones dentro de la enfermedad: HULC, HORTAIR y MEG3.

Por todo ello, el estudio de los lncRNAs es fundamental para su uso como marcadores de diagnóstico y de pronóstico, además de poder utilizarlos para el desarrollo de terapias contra el cáncer.

Palabras clave: lncRNA, cáncer hepatocelular, CHC, HULC, HORTAIR y MEG3.

Abstract:

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are known as a large and diverse class of transcribed RNA molecules that have more than 200 nucleotides and do not have protein-coding capacity. These molecules have 4 functions: signals, decoys, guides and scaffolds, as well as a great implication in cancer, a disease in which some of the body's cells multiply without control and spread to other parts of the body. In cancer, lncRNAs are usually expressed aberrantly and are related to characteristics of cancer cells: maintenance of proliferative signals, evasion of growth suppressors, avoidance of immune destruction, activation of replicative immortality, inflammation produced by tumors, activation of invasion and metastasis, induction of angiogenesis, genome instability and mutation, resistance to cell death, and dysregulation of cellular energy. One of the clearest examples appears in hepatocellular cancer (HCC). In it we can highlight the intervention of three main lncRNAs with different functions within the disease: HULC, HORTAIR and MEG3.

For all these reasons, the study of lncRNAs is essential for their use as diagnostic and prognostic markers, in addition to being able to use them for the development of cancer therapies.

Keywords: lncRNA, hepatocellular cancer, HCC, HULC, HORTAIR y MEG3.

Abreviaturas

- ✚ APL: leucemia promielocítica aguda
- ✚ ATRA: ácido transretinoico total
- ✚ ceRNA: RNA endógeno competitivo
- ✚ CCR: cáncer de colon irritable
- ✚ CHC: cancer hepatocelular
- ✚ eRNA: lncRNA asociado a *enhancers*
- ✚ eTM: imitadores de objetivos endógenos
- ✚ EC: células endoteliales
- ✚ FLOT: Flotillin 1
- ✚ Gas5: *growth arrest specific 5*, detención del crecimiento específico 5
- ✚ HOTAIR: *HOX transcript antisense RNA*, RNA antisentido del transcrito HOX
- ✚ HOXA-AS2: RNA antisentido 2 del grupo HOXA
- ✚ HULC: *hepatocellular carcinoma up-regulated long non-coding RNA*, carcinoma hepatocelular RNA no codificante largo regulado al alza
- ✚ IFNG-AS1: RNA 1 antisentido de interferón γ
- ✚ IFNG: gen IFN- γ
- ✚ lncRNA: RNA largo no codificante
- ✚ lincRNA: *Long intervening noncoding RNAs*, RNA no codificantes de intervención larga
- ✚ TP53G1: gen *TP53 target 1*
- ✚ TERRA: *Long Noncoding RNA at Eukaryotic*, RNA largo no codificante en telómeros eucarióticos
- ✚ MALAT1: *metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1*, transcrito 1 de adenocarcinoma de pulmón asociado a metástasis
- ✚ MDM2: murina de doble minuto 2
- ✚ MEG 3: *maternally expressed 3*, expresado maternal 3
- ✚ MI: infarto de miocardio
- ✚ miRNA: microRNA
- ✚ ncRNA: RNA no codificante
- ✚ NF- κ B: factor nuclear kappa B
- ✚ NF- γ A: subunidad alfa del factor γ de transcripción nuclear
- ✚ Pol II: polimerasa II
- ✚ PancRNA: *promoter-associated ncRNAs*, ncRNA asociados a promotores
- ✚ PRC2: *polycomb repressive complex 2*, complejo represivo polycomb 2
- ✚ PCGEM1: *prostate cancer gene expresión marker 1*, marcador de expresión génica de cáncer de próstata 1
- ✚ PTGS2: *prostaglandina-endoperóxido sintasa 2*, prostaglandina-endoperóxido sintasa 2
- ✚ PANDA: *P21-associated noncoding RNA DNA damage-activated*, RNA no codificante asociado a P21 activado por daños en el DNA
- ✚ SK1: esfingosina quinasa
- ✚ TP53: *tumor protein 53*, proteína tumoral 53
- ✚ TERT: transcriptasa inversa de la telomerasa
- ✚ VE: vesículas extracelulares
- ✚ VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular
- ✚ VHB: virus de la hepatitis B
- ✚ VHC: virus de la hepatitis C
- ✚ XCI: inactivación del cromosoma X
- ✚ 3'-UTR: *3' untranslated regions*, region 3' no traducida

1. INTRODUCCIÓN

1.1 LncRNAs

Los RNAs largos no codificantes (lncRNA) constituyen una amplia y diversa clase de moléculas de RNA transcritas que poseen más de 200 nucleótidos y no tienen capacidad de codificación de proteínas. Los lncRNAs se definieron por primera vez como RNAs no codificantes (ncRNA) similares a RNAs mensajeros (mRNA). El término en concreto de lncRNA incluye diferentes tipos de transcritos, como los RNAs intergénicos, RNAs procedentes de secuencias *enhancers* o potenciadoras y RNAs nucleolares pequeños (Bach y Lee, 2018).

Históricamente hablando existían pruebas de que la mayor parte de los transcritos no codificaban proteínas, lo que llevó a una discusión entre la comunidad científica sobre la existencia del “lado oscuro del genoma” o la presencia de “RNA basura” (Wilson, 2013). Con estos descubrimientos se determinó que el “exceso” de las regiones que se transcriben y que no codifican proteínas son ncRNA, y este hecho conduce a que, el patrón y la cantidad de material genético que se expresa es mayor a medida que aumenta la complejidad del organismo (Rao, 2017).

La característica más destacable de los lncRNAs es que son transcritos por la RNA polimerasa II (Pol II). Además, contienen un cap-5' y pueden ser poliadenilados en su extremo 3'. También tienen la capacidad de plegarse sobre sí mismos y adquirir estructuras secundarias y terciarias que tendrán funciones similares en especies evolutivamente distantes (Guttman *et al.*, 2009).

Los lncRNAs se pueden clasificar en diferentes categorías dependiendo de su posición genómica, a partir de la cual se produce la transcripción del RNA. Las diferentes categorías según Tang *et al.* (2017) son:

- LncRNAs asociados a una región codificante: localizados en genes codificantes de proteínas, se clasifican en varios subtipos. En primer lugar, los lncRNAs naturales antisentido que se transcriben a partir de la cadena antisentido de DNA de genes codificantes de proteínas. En segundo lugar, los lncRNAs intrónicos que se transcriben a partir de intrones de genes codificantes de proteínas. Por último, los lncRNAs sentido que se transcriben a partir de la cadena sentido (5' a 3') de DNA de genes codificantes de proteínas.
- LncRNAs intergénicos (lincRNAs): se transcriben a partir de secuencias cuya localización esta entre genes codificantes de proteínas.

- LncRNAs asociados a *enhancer* (eRNAs): se transcriben a partir de regiones reguladoras.
- LncRNAs asociados a promotor (pancRNAs): se transcriben a partir de la cadena sentido o antisentido del DNA que se encuentra cercana a regiones promotoras de genes codificantes de proteínas.

1.2 Cáncer

El cáncer es una enfermedad por la que algunas células del cuerpo se multiplican sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo. En condiciones normales, las células humanas se forman y se multiplican para formar células nuevas. Cuando las células envejecen o se dañan, mueren y las células nuevas las reemplazan (Figura 1). Cuando este proceso no sigue dicho orden, las células anormales o dañadas se forman y se multiplican cuando no deben (Figura 1). Estas células son capaces de formar tumores, que son protuberancias de tejido. Los tumores pueden ser cancerosos (malignos) o no cancerosos (benignos). En el caso de que el tumor sea canceroso, las células se dividen descontroladamente y mutan produciéndose carcinogénesis.

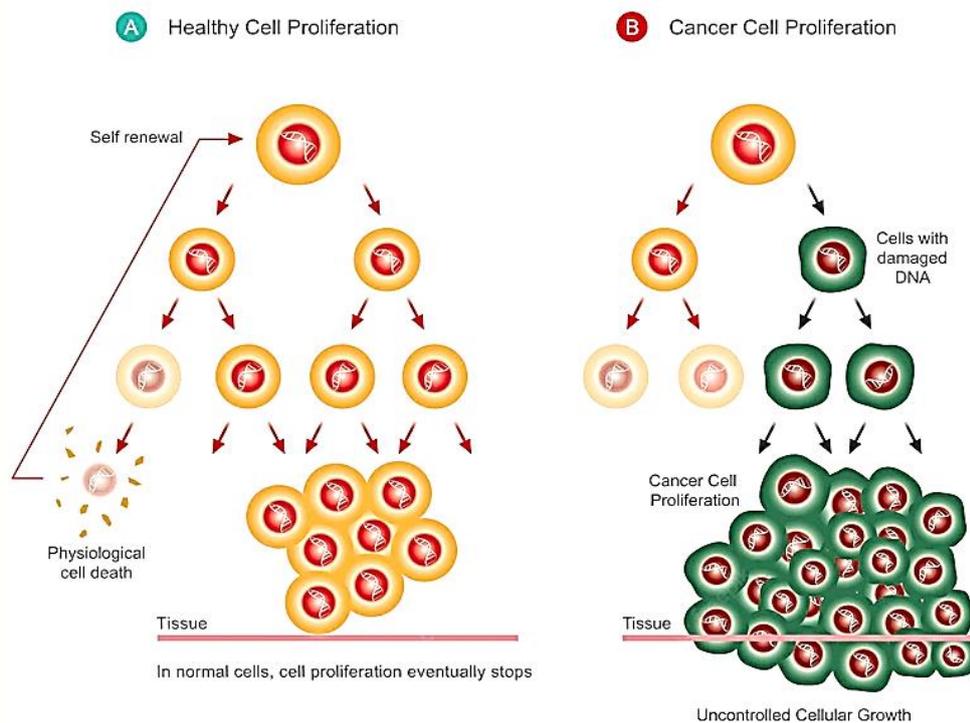


Figura 1: Esquema de la proliferación de células sanas y células cancerosas. Fuente: *Freepik Company S.L.*

Ante esta situación, las células pueden adquirir capacidad de invadir tejidos y órganos, o de trasladarse a través de los vasos sanguíneos o el sistema linfático (Figura 2) y proliferar en otras partes del organismo, lo que conocemos como metástasis.

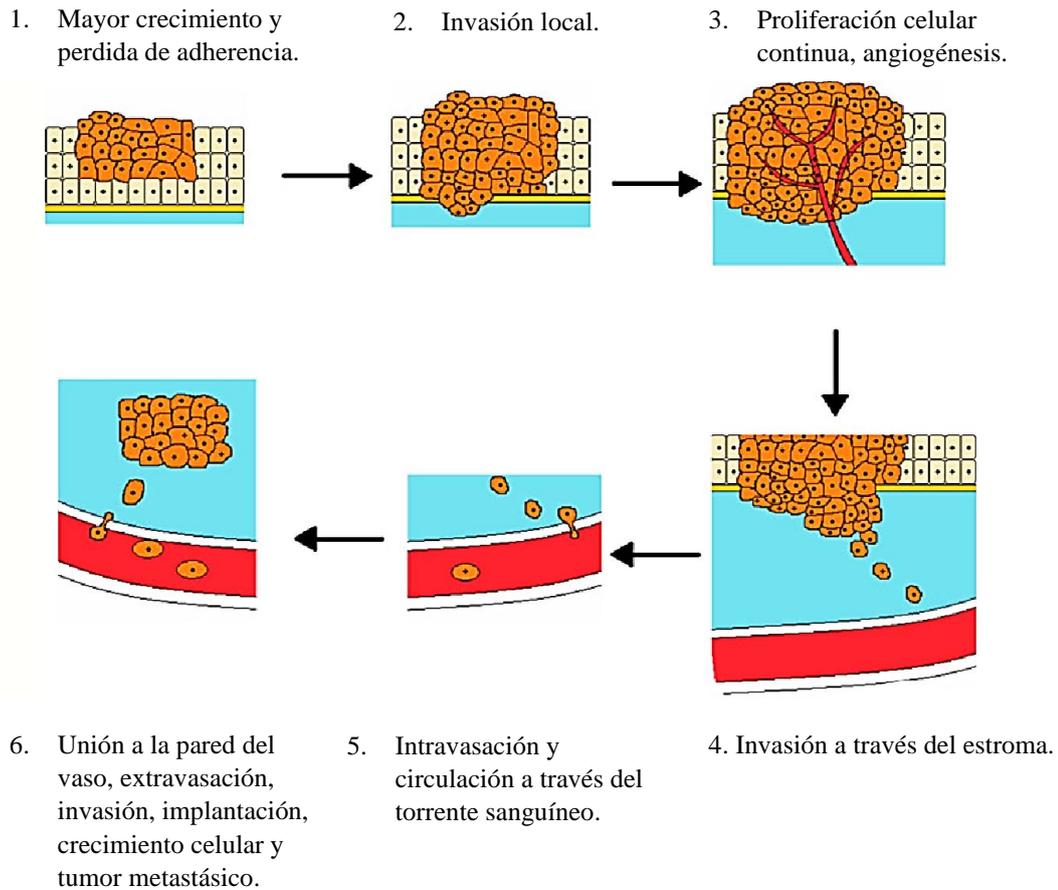


Figura 2: Esquema de la cascada metastásica en el desarrollo del cáncer. Fuente: Pavese *et al.*, 2010.

Estadísticamente sabemos que el cáncer afectará a uno de cada tres hombres y a una de cada cuatro mujeres a lo largo de la vida. En el año 2021 se diagnosticaron en España (Figura 3) 43.581 casos de cáncer colorrectal, 35.764 casos de cáncer de próstata, 33.375 casos de cáncer de mama, 29.549 casos de cáncer de pulmón.

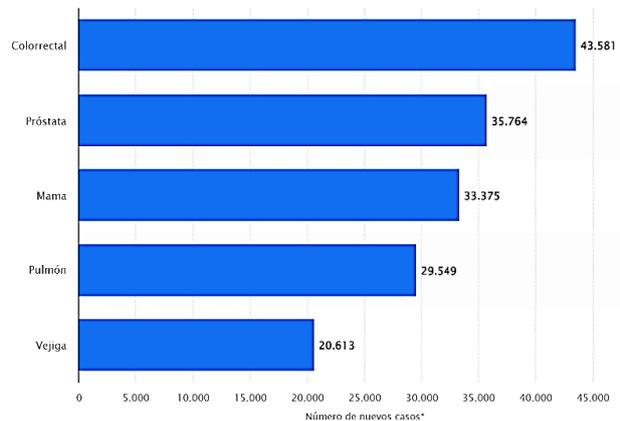


Figura 3: Estimación de los tipos de cáncer con más incidencia en España para 2021. Fuente: REDECAM: SEOM© Statista 2022.

2. OBJETIVOS

Con este trabajo se pretende realizar un estudio de la relación existente entre los RNAs largos no codificantes (lncRNAs) y el cáncer. Para tratar de conseguir este objetivo, se ha considerado

oportuno dividirlo en varios objetivos específicos, conociendo así todos los aspectos relacionados de estas moléculas:

- Analizar sus funciones.
- Conocer el papel que ejercen en los procesos de iniciación, crecimiento y proliferación de las células cancerígenas y como se desarrollan.
- Analizar su implicación como potenciales dianas terapéuticas y como biomarcadores en el cáncer, centrándose en el cáncer hepatocelular. Es necesario analizar su implicación en el cáncer hepatocelular, tanto terapéuticamente como biomarcador, por varios motivos. En primer lugar, es uno de los cánceres más expandidos en la sociedad española actual, por ello cuenta con una amplia variedad de estudios que ayudan a su detención y tratamiento. En segundo lugar, demuestra claramente las características de los lncRNAs y su implicación en el cáncer.

3. METODOLOGÍA

Con el fin de conseguir el objetivo previamente establecido, se ha realizado una revisión de la literatura acudiendo a diversas fuentes bibliográficas como libros, artículos en revistas de impacto e informes tanto teóricos como teórico-prácticos en las variables objeto de estudio, la gran mayoría de ellos artículos de revisión posteriores al año 2016.

A partir de esta revisión, el trabajo analiza las funciones, el papel y la importancia de los lncRNAs, dedicando un capítulo a cada uno de ellos, lo que conforma el primer bloque de este. El trabajo se ha completado a través del estudio de un caso práctico donde se aplican los conocimientos biológicos básicos en el desarrollo y aplicación de terapias para contrastar la teoría con la realidad. Tras verificar que los lncRNAs tienen implicación en él, se ha obtenido información del cáncer hepatocelular, centrado la atención en los lncRNAs HULC, HOTAIR y MEG3. Finalmente, los resultados obtenidos del caso práctico permiten extraer unas conclusiones que se detallan en el último apartado de este trabajo.

4. RESULTADOS

4.1 Funciones de los lncRNAs

Los lncRNA poseen innumerables funciones, que podemos clasificar en cuatro modelos. La complejidad funcional que poseen viene dada por las diferencias y similitudes que encontramos en dichos modelos.

En primer lugar, pueden actuar como una señal molecular o como un indicador de actividad transcripcional.

Anteriormente hemos mencionado que los lncRNAs se transcriben mediante la RNA Pol II y se expresan específicamente en

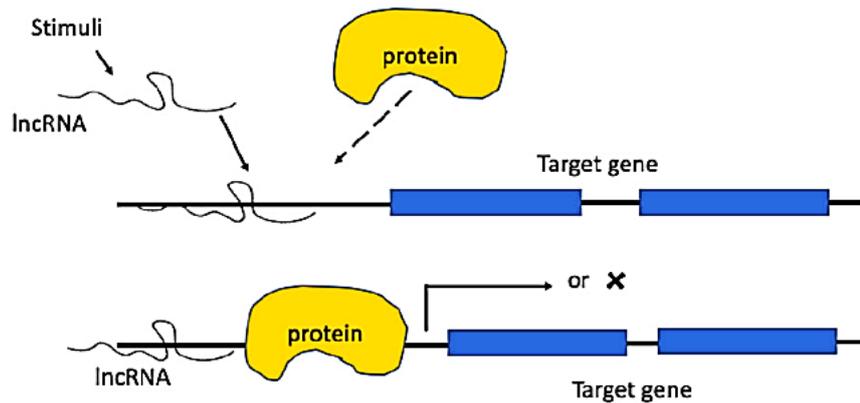


Figura 4: Actuación del lncRNA como señal en presencia de un estímulo, solo aparecen en momentos concretos y reflejan un estado concreto, ya sea metabólico o del desarrollo (Chowdhary *et al.*, 2021)

células respondiendo a numerosos estímulos y sirviendo como señales moleculares debido a que su transcripción ocurre en un momento y lugar muy específico para integrar señales de desarrollo, interpretar el contexto celular o responder a diversos estímulos. Además, los lncRNAs que funcionan según este modelo pueden actuar como marcadores de eventos biológicos funcionalmente significativos (Wang y Chang, 2011). Tenemos como ejemplo el proceso encargado de igualar la expresión génica entre machos y hembras de mamíferos a través de la inactivación del cromosoma X (XCI) en las células femeninas. La inactivación del cromosoma X es llevada a cabo por Xist que es un tipo de lncRNA (Pontier y Gribnau, 2011), no está claro cómo se controla pero se cree que implica reguladores positivos y negativos. Durante el desarrollo femenino el RNA del gen *XIST* se expresa a partir del cromosoma X inactivo (Xi) y recubre el cromosoma X del que se transcribe, lo que conduce a la represión de la expresión génica en todo el cromosoma. Además, interviene un lncRNA antisentido denominado Tsix que reprime la expresión de *XIST* y por otro lado, el lncRNA Jpx, cuya función es activar a *XIST* en el X inactivo (Figura 6) (Tian *et al.*, 2010).

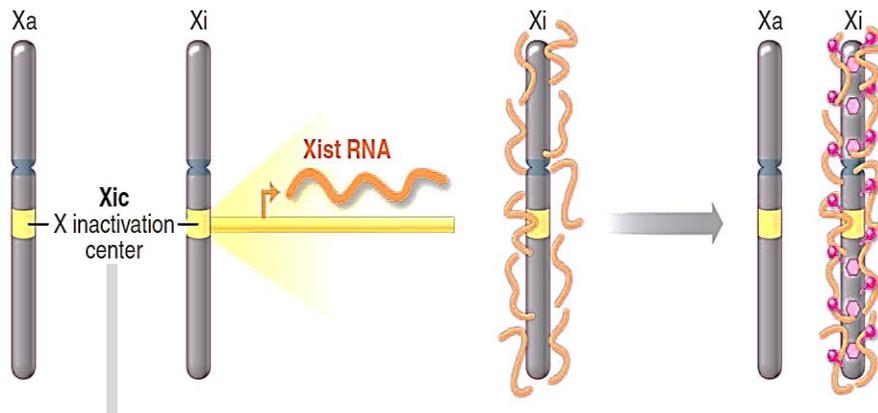


Figura 5: El lncRNA Xist se transcribe a partir del Xic del cromosoma X inactivo (Xi). Xist RNA cubre todo el cromosoma y silencia la expresión génica a través de la modificación epigenética de las histonas y el DNA. Fuente: Lee, 2012.

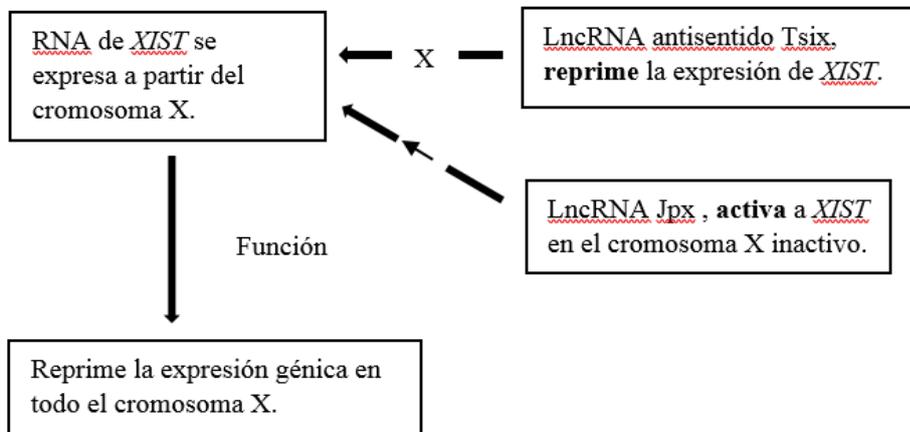


Figura 6: Esquema del proceso de inactivación de un cromosoma X en las células femeninas. Fuente: Lee, 2012.

En segundo lugar, pueden funcionar como señuelos. En este modelo los lncRNAs regulan la transcripción actuando como imitadores de objetivos endógenos (eTM), a través de su

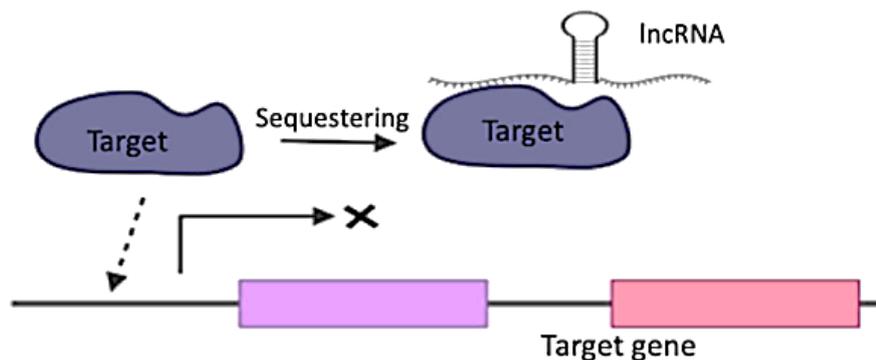


Figura 7: Actuación del lncRNA como señuelo. Fuente: Chowdhary *et al.*, 2021.

unión a proteínas reguladoras intermediarias, a moléculas de RNA o a moléculas de DNA y secuestrándolas lejos de sus objetivos. También los podemos denominar como RNA endógenos competitivos (ceRNA), los cuales actúan con un “efecto esponja” a través del emparejamiento

de bases con moléculas objetivo y haciendo que no estén disponibles para la interacción con sus moléculas diana. Por tanto, aquellos lncRNAs que se ajustan a este modelo, van a actuar regulando negativamente un efector (Wang y Chang, 2011). En este caso, como ejemplo tenemos al lncRNA Gas5 (*growth arrest-specific 5*), que fue identificado como un mecanismo novedoso a través del cual las células pueden crear un estado de resistencia a los glucocorticoides (Kino *et al.*, 2010). Gas5 tiene como función reprimir el receptor de glucocorticoides a través de la formación de un motivo de RNA, que imita a su vez al motivo de DNA semejante al de los elementos de respuesta hormonal que se sitúan en las regiones promotoras de los genes sensibles a los glucocorticoides. Por tanto, Gas5 actúa como un señuelo molecular porque compite por la unión al dominio del DNA del receptor de glucocorticoides, de tal manera que impide la interacción de este con el cromosoma (Kino *et al.*, 2010).

En tercer lugar, como guías. Consiste en la unión del lncRNA a la(s) proteína(s) y a continuación dirige el complejo de ribonucleoproteína a sus objetivos específicos, conduciendo a la expresión o silenciamiento de estas regiones genómicas diana. Esto va a implicar el reclutamiento de enzimas modificadoras de la

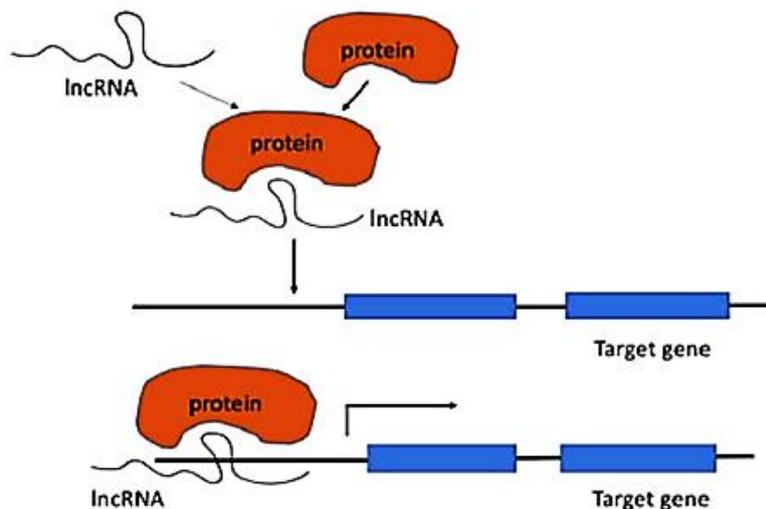


Figura 8: Actuación del lncRNA como guías. Fuente: Chowdhary *et al.*, 2021.

cromatina cuya función es alterar el estado de la cromatina con la formación de estructuras complejas con proteínas efectoras (Chowdhary *et al.*, 2021). Como se ha mencionado anteriormente sabemos que los lncRNAs pueden guiar cambios en la expresión génica tanto en *cis* (afectando a genes en la misma molécula de DNA) como en *trans* (afectando a genes de otros cromosomas) de forma que no es fácil predecir en función de la secuencia lncRNA. Por ello, las funciones distintivas y generalizadas de estos RNAs en la regulación transcripcional dejan ver que los cambios locales en la estructura de la cromatina puede tener consecuencias tanto en estructuras que se encuentran a distancia como en estructuras locales (Wang y Chang,

2011). Por ejemplo, en el caso de guiar un cambio en *cis* tenemos a el lncRNA Air que silencia la transcripción de su gen objetivo en el cromosoma paterno a través de una interacción específica entre el lncRNA y la cromatina en su promotor (Nagano *et al.*, 2008). Y por otro lado, si la actuación es en *trans* tenemos al *HOX transcript antisense* (HOTAIR) asociado recientemente con la metástasis del cáncer (Gupta *et al.*, 2010), debido a la existencia de una elevada expresión de HOTAIR en el cáncer de mama primario y metastásico. Además, sabemos que el agotamiento de HOTAIR en las células cancerosas provoca una menor invasividad de las células que expresan un alto nivel de proteínas polycomb (PRC2) (Gupta *et al.*, 2010). En resumen, los lncRNAs como HOTAIR son capaces de alterar y regular los estados epigenéticos en las células por su orientación en la ocupación/localización/actividad enzimática del complejo modificador de la cromatina en *trans*.

Por último, pueden actuar como andamios. Antiguamente se creía que las proteínas eran las encargadas de llevar a cabo este proceso de andamiaje (Bueno *et al.*,

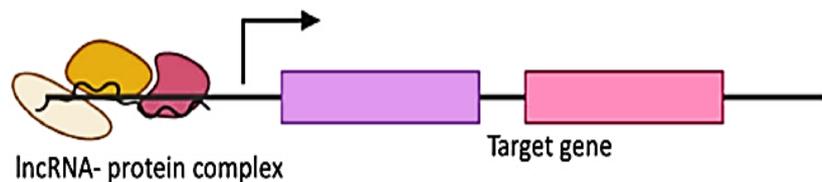


Figura 9: Actuación del lncRNA como andamio. Fuente: Chowdhary *et al.*, 2021.

2011), pero tras varios estudios se planteó la posibilidad de que los lncRNAs actúan como plataformas centrales sobre las que se va a ensamblar los componentes moleculares relevantes. Esta característica es fundamental en procesos de señalización biológicos, para el control de la especificidad y la dinámica de interacciones intermoleculares y eventos de señalización (Spitale *et al.*, 2011). En este modelo tenemos como ejemplo a TER, uno de los lncRNAs mejor estudiados. TER es el RNA de la telomerasa que actúa como un andamiaje a medida que se ensambla en un complejo de ribonucleoproteína con varias proteínas, entre ellas la transcriptasa inversa TERT. La función de TERT es copiar repetidamente una secuencia de plantilla incrustada en TER con el objetivo de establecer y mantener repeticiones de telómeros en los extremos de los cromosomas (Bernardes de Jesús y Blasco, 2013; Günes y Rudolph, 2013). Además, en células madre la telomerasa debe reponer el DNA telomérico continuamente para evitar que se produzca senescencia celular, pero hay células con programas de proliferación limitados y en estos caso la telomerasa se reprime evitando la carcinogénesis. Por ello, la telomerasa actúa en múltiples niveles de regulación que se dirigen tanto a TERT como a TER (Cifuentes-Rojas y Shippen, 2012; Egan y Collins, 2012).

4.2 Papel de los lncRNAs en el cáncer

En la actualidad observamos que las mutaciones dentro del genoma no codificante son los principales determinantes de las enfermedades humanas, entre ellas el cáncer (Maurano *et al.*, 2012). Concretamente los lncRNAs han sido investigados como moduladores clave de muchos procesos biológicos en cánceres humanos, pueden interactuar con macromoléculas como el DNA, el RNA o las proteínas provocando efectos celulares y actuando como promotores de tumores o supresores de tumores en diversas neoplasias malignas (Bach y Lee, 2018). En la Figura 10 se muestran ejemplos de lncRNAs implicados en las diferentes características relacionadas con la progresión del cáncer.

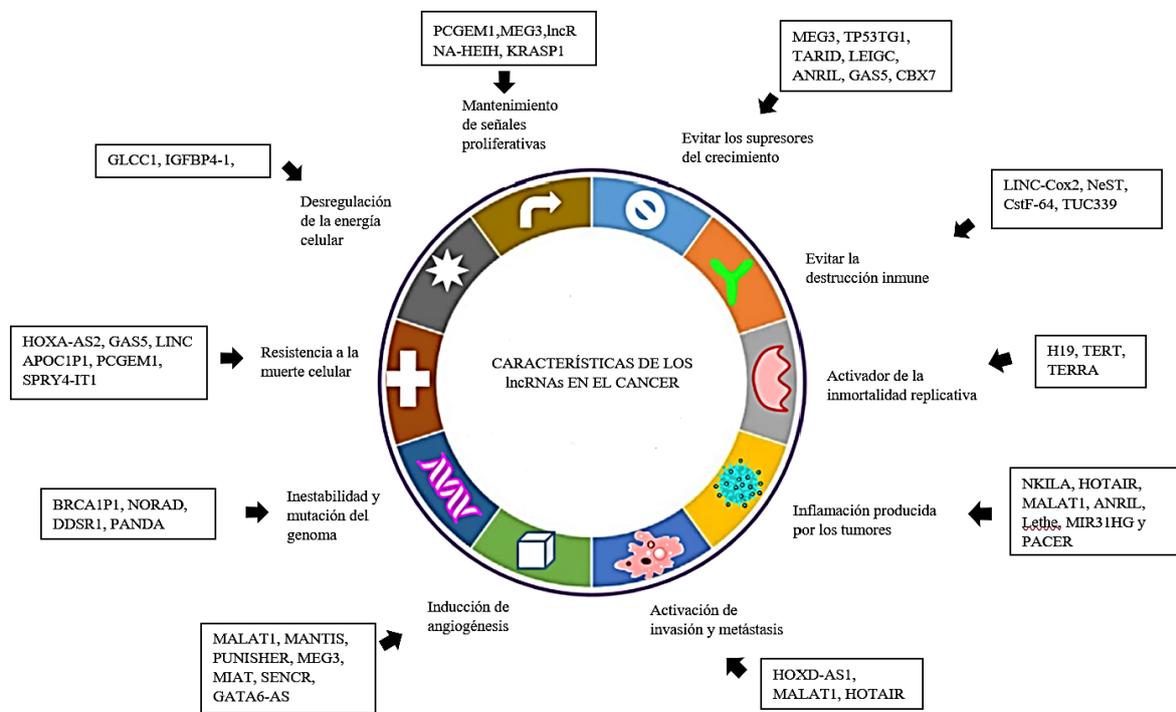


Figura 10: El papel de los lncRNAs está asociado con las características del cáncer y además contribuyen a varios aspectos de la progresión del cáncer. Fuente: Bach y Lee, 2018.

4.2.1 Mantenimiento de las señales proliferativas

Se define proliferación celular como el proceso por el cual una célula crece y se divide para producir dos células hijas. Una de las características principales de las células cancerígenas es que pueden mantener la capacidad proliferativa en ausencia de estímulos externos, es decir, que son completamente independientes de dichas señales proliferativas altamente controladas, teniendo como resultado un crecimiento incontrolado de las células (Carvalho de Oliveira *et*

al., 2018). Existen estudios que demuestran que los lncRNAs intervienen en el mantenimiento de la señal proliferativa, a través de la interacción con la proteína Myc. Aunque en ocasiones el gen *MYC* se transforma en oncogén, tras ser amplificado el locus 8q24 en el que se localiza. Se observó que las interacciones de la proteína Myc con algunos lncRNAs pueden incrementar su función produciendo un resultado semejante. Existe un lncRNA identificado recientemente y conocido como *prostate cancer gene expresión marker 1* (PCGEM1) que desempeña un papel crucial en el inicio y la progresión de múltiples tumores al interactuar con reguladores fundamentales de las vías de señalización relacionadas con la progresión del tumor. Se trata de un lncRNA expresado específicamente dentro de la próstata, sobreexpresado en muchas células cancerosas (Su *et al.*, 2022) y en concreto regulador de la progresión del cáncer de próstata donde interacciona con Myc provocando la expresión de genes implicados en procesos metabólicos necesarios para el crecimiento de células tumorales del cáncer de próstata (Renganathan *et al.*, 2017).

4.2.2 Evasión de supresores de crecimiento

En células humanas normales encontramos protooncogenes relacionados con el crecimiento y proliferación de las células normales, pero en el momento en el que sufren mutaciones se denominan oncogenes los cuales provocaran un aumento descontrolado de la proliferación celular. Sin embargo, estos no son los únicos genes que explican el desarrollo tumoral, también intervienen los genes supresores de tumores que controlan la proliferación, reparación celular y apoptosis (Sánchez, 2013). Estos últimos son capaces de anular el crecimiento tumoral, pero también pueden perder su función de supresión en las células cancerosas debido a mutaciones o a la unión de factores de inactivación. Los lncRNAs pueden actuar como supresores de tumores regulando una variedad de objetivos (Bach y Lee, 2018). Los genes supresores de tumores son reguladores negativos del crecimiento que controlan la proliferación celular, como ejemplo tenemos a p53. El gen p53 (*TP53*) se activa como respuesta al estrés oxidativo, hipoxia y daño en el DNA. Existen diferentes lncRNAs regulados por la proteína *TP53*, de ellos cabe destacar *TP53 Target 1* (lncRNA *TP53TG1*) y *Maternally Expressed 3* (lncRNA *MEG3*).

La proteína *TP53* activa el gen *TP53TG1*, y el lncRNA que se sintetiza interacciona con *YBX1* (proteína activadora de varios oncogenes). En el caso de determinadas células cancerosas (por ejemplo en células tumorales de colon o de estómago), la hipermetilación del gen *TP53TG1* impide una expresión adecuada, permitiendo la activación de oncogenes por *YBX1* (Figura 11).

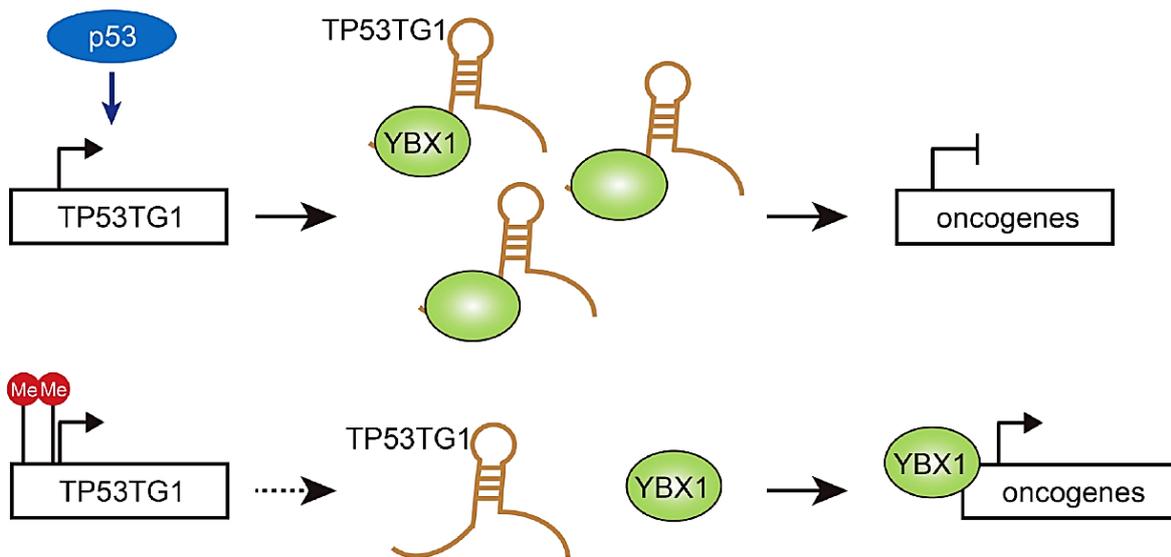


Figura 11: Esquema del papel del lncRNA TP53TG1 en la expresión de genes relacionados con el cáncer. Fuente: Wu y Wang, 2017.

En este caso, TP53TG1 promueve el desarrollo de adenocarcinoma ductal pancreático al actuar como una esponja molecular de microARN-96 (Zhang *et al.*, 2019).

El lncRNA *Maternally Expressed 3* participa en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica a través de la regulación de la apoptosis de células endoteliales microvasculares pulmonares humanas (Bi *et al.*, 2020).

4.2.3 Evitar la destrucción inmune

El sistema inmunitario es el conjunto de elementos y procesos biológicos en el interior de un organismo que le permite mantener el equilibrio interno frente a agresiones externas, ya sean de naturaleza biológica, físico-químicas e internas (células cancerosas). A veces, el sistema inmunitario comete un error y ataca a los tejidos o a los órganos del propio cuerpo, lo que conocemos como autoinmunidad. Tras numerosos estudios, se dedujo que los lncRNAs participan en la regulación de diversos tipos de genes del sistema inmunitario codificantes y no codificantes de proteínas. Además, participa en enfermedades autoinmunes (Bach y Lee, 2018). Tenemos como ejemplo a *Linc-Cox2*, un lncRNA que funciona de diferentes maneras regulando la actividad de los genes involucrados en la inflamación y en otras respuestas del sistema inmunitario como por ejemplo, la inhibición de la expresión de genes importantes en la respuesta inmune innata a las infecciones virales (Elling *et al.*, 2018), es más, recientemente se ha demostrado que estos lncRNAs regulan el desarrollo y la función de las células inmunitarias (Kotzin *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2017). Se quiso analizar las

funciones *in vivo* de Linc-Cox2 y para ello caracterizaron modelos de ratones deficientes de dicho lncRNA (Figura 12). Los macrófagos y tejidos de los ratones con ausencia de LincCox2 tenían expresión alterada de algunos genes inflamatorios. Además, se demostró que la eliminación del locus lincRNA-Cox2 perjudica fuertemente la expresión del gen vecino prostaglandina endoperóxido sintasa (*Ptgs2*), encargado de codificar la ciclooxigenasa-2 (enzima clave en la ruta de biosíntesis de prostaglandinas) (Elling *et al.*, 2018).

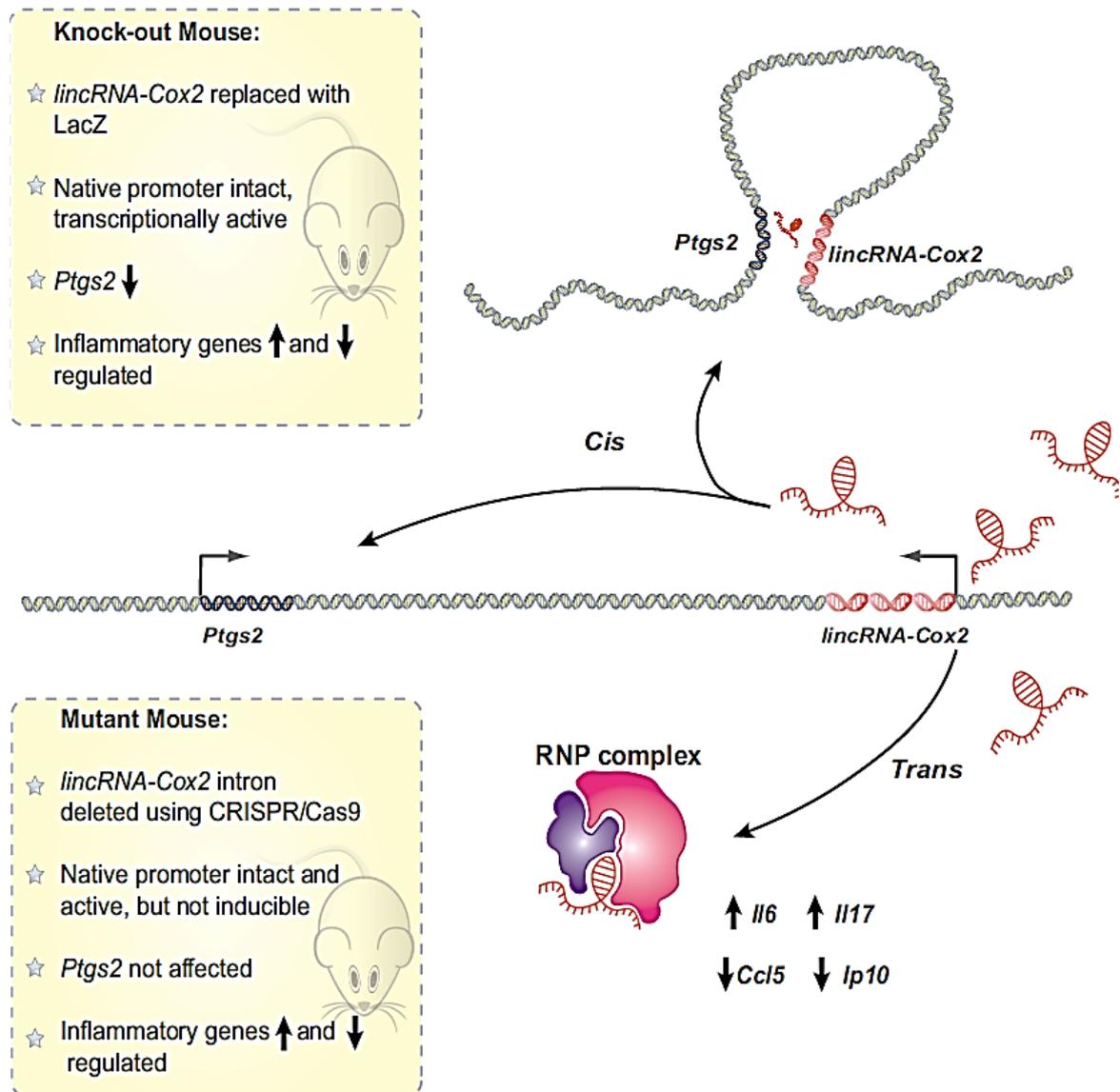


Figura 12: Esquema de la actuación reguladora de lincRNA-Cox2. Fuente: Elling *et al.*, 2018.

4.2.4. Activador de la inmortalidad replicativa

Sabemos que las células normales tienen la capacidad replicativa limitada, en cambio las células tumorales tienen una replicación teóricamente ilimitada. Una de las características de

las neoplasias malignas en estado avanzado es la proliferación celular constante. Esta proliferación está asociada a la reactivación de la telomerasa, enzima responsable del mantenimiento de la longitud de los telómeros mediante la adición de secuencias repetitivas al final de los cromosomas estableciendo el momento de la muerte celular. En el caso de las células sanas la actividad de la telomerasa se va perdiendo con el paso de los años, pero en las células cancerígenas no ocurre esto, lo que provoca que no se acorten las repeticiones teloméricas y en consecuencia la inmortalidad de estas células. Podemos destacar dos lncRNAs que intervienen en este proceso, en primer lugar, H19 cuya sobreexpresión aumenta la unión de la transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT) al componente de RNA de la telomerasa y reduce la interacción entre TERT y el inhibidor lncRNA TERRA, favoreciendo la actividad de la telomerasa y provocando la extensión de los telómeros (Pu *et al.*, 2015). En segundo lugar, tenemos a *Telomeric Repeat-containing RNA* (lncRNA TERRA) mencionado anteriormente, cuya función es inhibir la actividad de la telomerasa, de tal manera que no pueda añadir más nucleótidos al extremo del cromosoma y en consecuencia que las células cancerígenas no puedan dividirse de manera continua (Carvalho de Oliveira *et al.*, 2018).

4.2.5 Inflamación producida por los tumores

Recientemente se ha descrito los beneficios y desafíos terapéuticos de los lncRNAs que regulan la actividad del factor nuclear kappa B (NF- κ B), que son una familia de factores de transcripción que intervienen en la modulación de las respuestas inflamatorias y también en la función inmune y transformación maligna. Los lncRNAs pueden interferir con componentes de señalización o moléculas relacionadas corriente arriba de NF- κ B, interactuar con NF- κ B, ser estimulados por la señalización de NF- κ B y modular la expresión de los genes diana de NF- κ B (Mao *et al.*, 2018). Además, el descubrimiento de los lncRNAs ha proporcionado un nuevo tipo de regulación para la señalización de NF- κ B siendo empleado para intervenciones terapéuticas. Los lncRNAs asociados a NF- κ B más comunes son NKILA, HOTAIR, MALAT1, ANRIL, Lethe, MIR31HG y PACER. Cabe destacar el caso de NKILA, un lncRNA identificado originalmente en el cáncer de mama. Se llevaron a cabo experimentos donde las células de cáncer de mama fueron estimuladas con inductores de NF- κ B (conocidos como un grupo de proteínas que ayudan a controlar funciones en la célula como el crecimiento y la supervivencia y que además se encuentran en elevadas concentraciones en determinadas células cancerígenas). Esta estimulación provocó el aumento de la expresión de NKILA, lo que llevó a la conclusión de que su expresión está impulsada por NF- κ B. Por otro lado, en el caso

de las células epiteliales mamarias estimuladas con inflamación NKILA va a prevenir la sobreexpresión de NF- κ B. Por ello, los niveles bajos de NKILA se asocian con metástasis y mal pronóstico de los pacientes con cáncer, además de una activación anormal de NF- κ B. NKILA actúa como un guardián de NF- κ B en células no estimuladas. Concluyendo que está altamente expresado en cánceres de mama no invasivos y epitelios de mama normales (Gupta *et al.*, 2020).

Estos últimos años se han estudiado moléculas que intervienen en puntos de control inmunitarios como un nuevo enfoque para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, tenemos al lncRNA conocido como RNA1 antisentido de interferón γ (IFNG-AS1) que se encuentra localizado cerca del gen que codifica para IFN- γ (IFNG). Este lncRNA se considera un punto de control, el cual participa en la expresión de IFNG en células Th1. Por tanto, la modulación terapéutica de la expresión de IFNG-AS1 puede tener efectos beneficiosos en pacientes con cáncer (Yaghoobi *et al.*, 2018).

4.2.6 Activación de invasión y metástasis

Se define metástasis como el momento en el que el cáncer se ha diseminado a una parte del cuerpo distinta de donde comenzó. Esto se produce debido a que las células cancerosas se desplazan del tumor principal e ingresan en el torrente sanguíneo o en el torrente linfático. Como ya sabemos ambos sistemas transportan fluidos por el cuerpo lo que implica que las células cancerosas pueden desplazarse hacia un lugar alejado del tumor original y formar nuevos tumores. Recientemente se han caracterizado funcionalmente muchos lncRNAs humanos y también se han descrito sus funciones críticas relacionadas con la invasión y la metástasis. El papel de los lncRNAs en la activación de la invasión y metástasis puede llevarse a cabo de 3 maneras: a través de la modulación negativa de la metástasis tumoral, por la estimulación de la invasión y metástasis tumorales y finalmente por una combinación de ambas funciones reguladoras (Bach y Lee, 2018). Los lncRNAs más estudiados son MALAT1 y HOTAIR. MALAT1 (*Metástasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1*) se identificó por primera vez en tumores de pacientes con cáncer de pulmón y se encontró que estaba regulado al alza en los tumores con una mayor propensión a metastatizar. La sobreexpresión de MALAT1 se ha asociado con metástasis en cánceres de pulmón, mama e hígado. Se realizaron numerosos experimentos en ratones donde se demostró que, al retirar MALAT1 en células de cáncer de mama, disminuía la migración e invasión de estas células y producía una reducción de la metástasis. A parte de esos experimentos también se han realizado

observaciones similares en casos de carcinoma esofágico, cáncer de cuello uterino y cáncer de próstata, en los que la eliminación de MALAT1 detuvo el crecimiento tumoral (metástasis) en los ratones con los que se experimentó (Arun *et al.*, 2020). En el caso de HOTAIR estudios han demostrado que es un poderoso predictor de metástasis y está relacionado con un tamaño tumoral más grande, una supervivencia general deficiente y un estadio patológico avanzado (Zhou *et al.*, 2014). Respecto a la invasión celular, se demostró en ensayos *in vitro*, que la inhibición de la expresión de HOTAIR en líneas celulares de cáncer de ovario epitelial altamente metastásico reducía significativamente la invasión celular. En el caso del cáncer de pulmón, la eliminación de HOTAIR en las células SBC-3 condujo a una disminución de la actividad de proliferación y una disminución de la invasividad. Por otro lado, HOTAIR interviene en la activación de la metástasis (Figura 13). Tras la realización de estudios que demuestran el papel de HOTAIR en el cáncer de células escamosas de laringe humana se concluyó que la sobreexpresión de HOTAIR conduce a la tumorigénesis y la inhibición de HOTAIR impide la proliferación y la tumorigénesis (Zhou *et al.*, 2014).

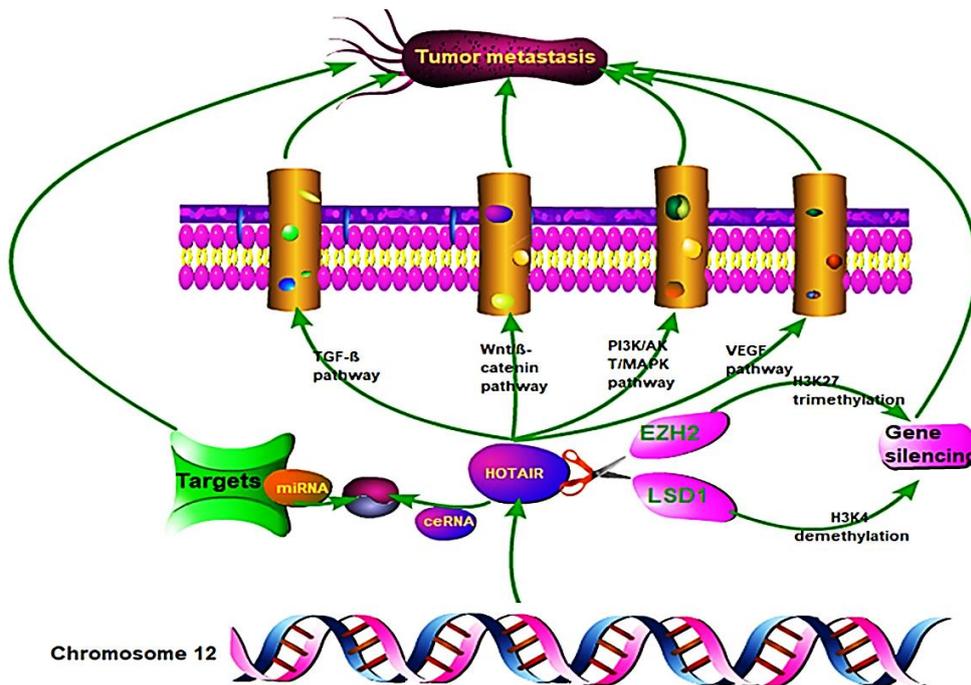


Figura 13: Resumen de las funciones y los mecanismos moleculares del lncRNA HOTAIR y la metástasis tumoral. Fuente: Chen *et al.*, 2021.

4.2.7 Inducción de angiogénesis

La angiogénesis es la formación de vasos sanguíneos y la angiogénesis tumoral es el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos necesarios para el crecimiento de los tumores. En

relación a ello, se ha descubierto que varios lncRNAs están implicados en la regulación de suministros de nutrientes a los tumores, de tal manera que dichos lncRNAs funcionan regulando el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (importante para la formación de vasos sanguíneos) (Bach y Lee, 2018). Numerosos estudios han demostrado que estos lncRNAs poseen una importante función sobre numerosos factores angiogénicos y vías de señalización que regulan el crecimiento y la morfogénesis de los vasos sanguíneos (Yu y Wang, 2018). Se han relacionado varios tipos de lncRNAs con enfermedades vasculares patológicas como trastornos microvasculares, hipertensión pulmonar, infarto de miocardio y aterosclerosis (Bach y Lee, 2018). Estos lncRNAs mencionados anteriormente son conocidos como Angio-lncRNAs y entre ellos destacan MALAT1, MANTIS, MEG3, NRON, MIAT, STEEL, NAT, SENCER y GATA6-AS, pudiendo actuar como promotores o inhibidores de la angiogénesis a través de distintos mecanismos (Figura 14).

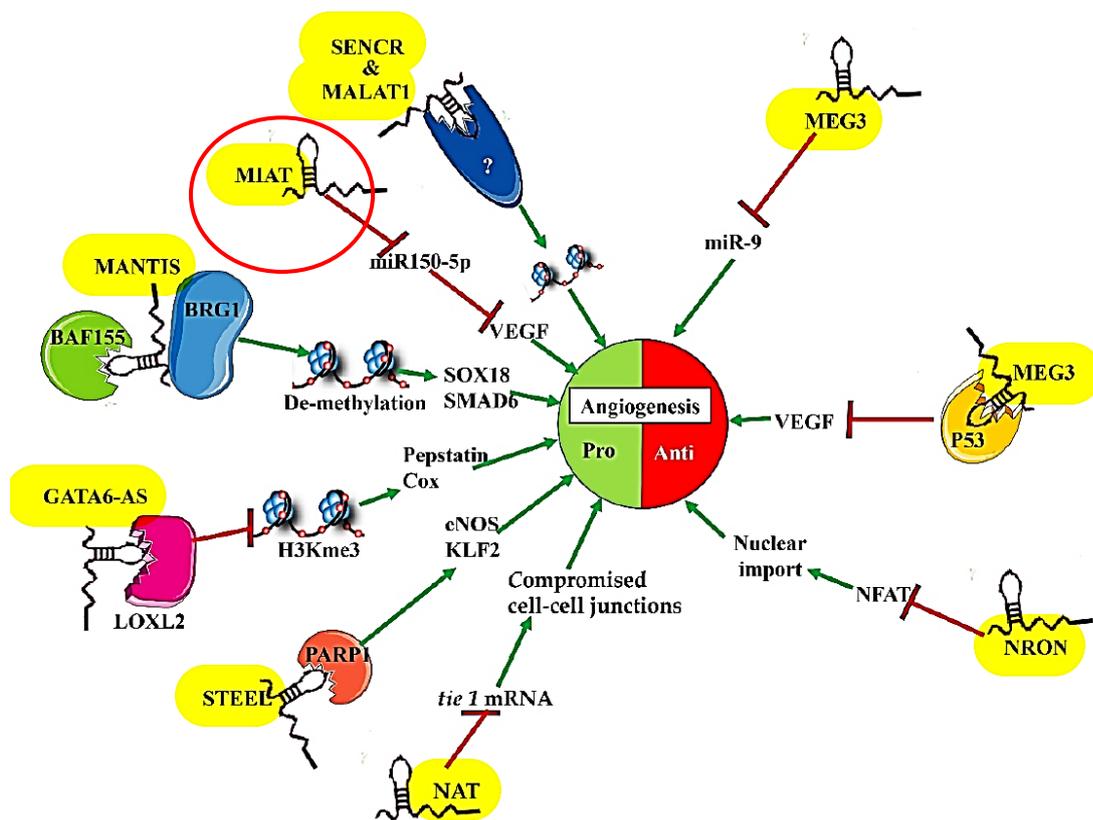


Figura 14: Ejemplos de lncRNAs (resaltados en color amarillo) promotores e inhibidores de la angiogénesis. Fuente: Mabeta *et al.*, 2022.

En el caso de MIAT, se identificó como un transcrito asociado al infarto de miocardio (MI). El MI es la ausencia de flujo sanguíneo en el corazón, sufriendo así la falta de oxígeno y en consecuencia provocando la muerte de las células cardíacas. MIAT se expresa en células

cardíacas, es inducida por altos niveles de glucosa y aumenta en la membrana fibrovascular de los pacientes diabéticos. Se realizaron experimentos donde la eliminación de MIAT en células endoteliales (EC) en condiciones de glucosa altas provocaba la disminución de la proliferación celular y el aumento de la muerte celular, además de la formación de redes vasculares primitivas inducidas por VEGF (Yu y Wang, 2018).

4.2.8 Inestabilidad y mutación del genoma

La inestabilidad genómica es el aumento en la tendencia de presentar mutaciones en el DNA u otros cambios genéticos que aparecen durante la división celular y donde van a intervenir los lncRNAs. Tenemos como ejemplo de lncRNA a *P21-associated noncoding RNA DNA damage-activated* (PANDA) que se induce en respuesta al daño del DNA y reprime la apoptosis al inhibir la función del factor de transcripción de la subunidad alfa del factor Y de transcripción nuclear (NF-YA) (Figura 15). Además, PANDA estabiliza la proteína supresora de tumores p53, como respuesta al daño del DNA. Esta proteína controla la proliferación celular en respuesta a ataques oncogénicos y daños en el DNA, cuando se encuentra activada desencadena la detención del ciclo celular y la apoptosis, evitando la proliferación de células dañadas, por ello, la interrupción de la vía p53 es un punto clave en la carcinogénesis (Kotake *et al.*, 2016).

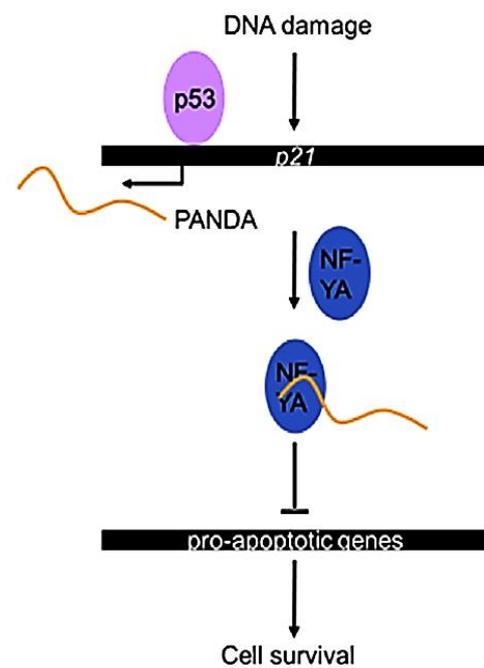


Figura 15: Mecanismo de acción del lncRNA PANDA. Fuente: Zhang *et al.*, 2019.

4.2.9 Resistencia a la muerte celular

Los lncRNAs poseen una gran cantidad de funciones, entre otras ser reguladores de la apoptosis durante la diferenciación celular y el desarrollo de órganos. Además, en diferentes estudios se ha indicado que los lncRNAs son moduladores negativos de la apoptosis en diferentes tipos de tumores. Por ejemplo, el RNA antisentido 2 del grupo HOXA (HOXA-AS2), es un lncRNA ubicado entre los genes HOXA3 y HOXA4 en el grupo HOXA. Su transcrito se expresa en células de leucemia promielocítica NB4 (Zhao *et al.*, 2018). Esta leucemia promielocítica

aguda (APL) es única entre las leucemias mieloides por su sensibilidad al ácido transretinoico total (ATRA). ATRA induce la detención del ciclo celular y la maduración de las células APL, esto provoca que el fenotipo de células similares a granulocitos diferenciadas terminalmente y caracterizadas por una apoptosis espontánea por caspasa (Gianni *et al.*, 2000). Además, se ha estudiado el efecto de HOXA-AS2 en la apoptosis inducida por ATRA en las células NB4, debido a que la reducción del número de células y su viabilidad puede participar en el aumento de la apoptosis. Los resultados del estudio fueron que la inducción de HOXA-AS2 por ATRA suprime la apoptosis inducida por ATRA (Zhao *et al.*, 2013).

4.2.10 Desregulación de la energía celular

La reprogramación del metabolismo energético es un proceso activo e indispensable para la transformación tumoral. Además de ser una característica muy importante en el cáncer. En el caso de la reprogramación metabólica del cáncer, permite que las células malignas ajusten las reacciones metabólicas y la absorción de nutrientes, lo que apoya el crecimiento y la diseminación del tumor. Además, las células cancerosas aumentan su metabolismo energético de dos formas, en primer lugar, las células malignas aumentan el suministro de glucosa captándola y sustrayéndola de las células normales en el microambiente tumoral y en segundo lugar, evitan la producción de energía obtenida por fosforilación oxidativa mitocondrial y aceleran la vía de la glucólisis (Sellitto *et al.*, 2021). Recientemente se ha demostrado que los lncRNAs pueden actuar como un código regulador que controla el desarrollo y la función del tejido metabólico, incluyendo la adipogénesis (diferenciación de células multipotenciales a adipocitos maduros), el metabolismo de los lípidos hepáticos y la respuesta inmune (Zhao *et al.*, 2018). Por ejemplo el caso de GLCC1 (Figura 16), un lncRNA promotor del cáncer colorrectal (CCR), promueve el metabolismo de la glucosa al estabilizar el factor de transcripción c-Myc, ya que evita su ubiquitinación, y provocar un cambio en los genes que resultan activados (por ejemplo *LDHA*). La mayor producción de ácido láctico, que es secretado al exterior, conlleva una disminución del pH extracelular. Además, todo este proceso es más acusado bajo la inanición de glucosa provocada por el rápido crecimiento en células CCR, aumentando la supervivencia y proliferación celular al mejorar la glucólisis. GLCC1 se asocia con la tumorigénesis y una expresión elevada del mismo, junto con una disminución del pH extracelular indican un mal pronóstico del desarrollo del cáncer (Tang *et al.*, 2019).

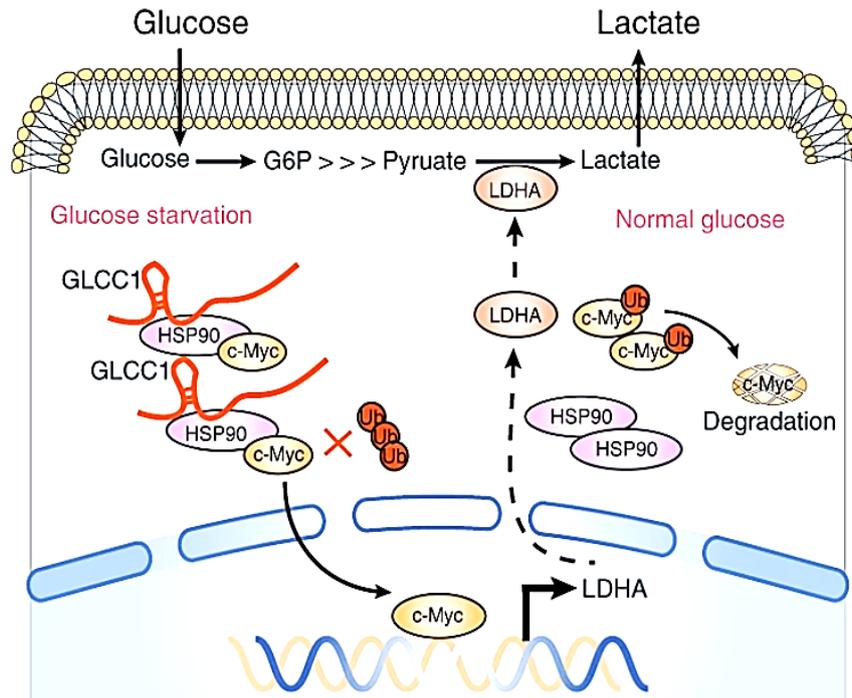


Figura 16: Representación del mecanismo de actuación del lncRNA GLCC1 en el metabolismo de la glucosa en las células CCR. Fuente: Tang *et al.*, 2019.

4.3 Implicación de los lncRNAs en el proceso de carcinogénesis

4.3.1 Carcinoma hepatocelular

El carcinoma hepatocelular (CHC) es un cáncer que se origina en las células del hígado y es el más común de los cánceres hepáticos primarios. El hecho de sufrir cirrosis, infección crónica por el virus de la hepatitis B (VHB) o el virus de la hepatitis C (VHC), ingerir cantidades excesivas de alcohol, poseer el síndrome metabólico, sufrir diabetes o ciertas enfermedades hepáticas hereditarias son algunos de los factores que aumentan el riesgo de padecer cáncer de hígado. Además, existe el factor de riesgo ambiental por la ingesta dietética de aflatoxina B1 (venenos producidos por mohos) en Asia y África. Tiene una alta incidencia en la población mundial siendo más frecuente en los hombres que en las mujeres y diagnosticándose generalmente en personas de 50 años de edad o más (Calero *et al.*, 2021). Existen estrategias para ayudar a reducir los factores predisponentes del CHC como la vacunación contra el VHB, la eliminación del VHC con agentes antivirales, la mejora del estilo de vida y la mejora de los hábitos alimenticios. Sin embargo, el CHC sigue siendo la cuarta causa principal de muertes relacionadas con el cáncer (Unfried *et al.*, 2021).

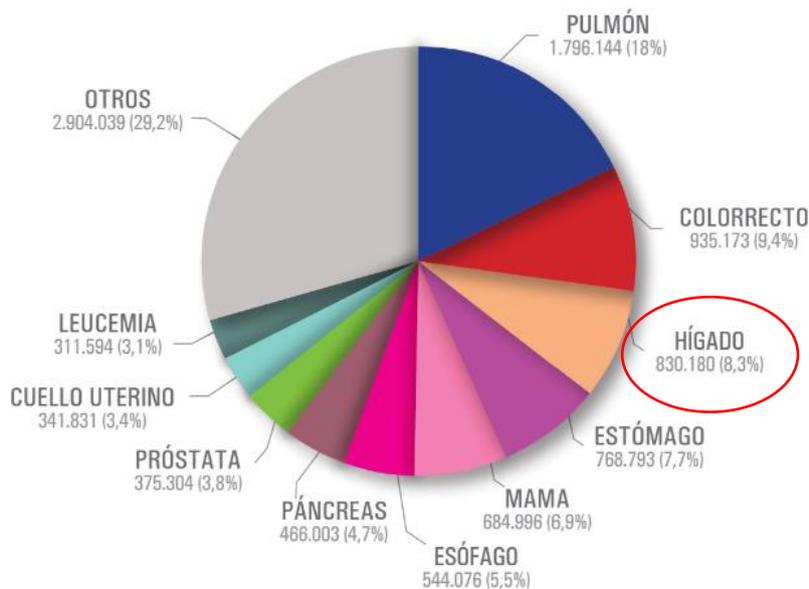


Figura 17: Estimación del número de fallecimientos por cáncer en el mundo en el año 2020, ambos sexos. Fuente: *Global Cancer Observatory* (<http://gco.iarc.fr/>) © *International Agency for Research on Cancer 2020*.

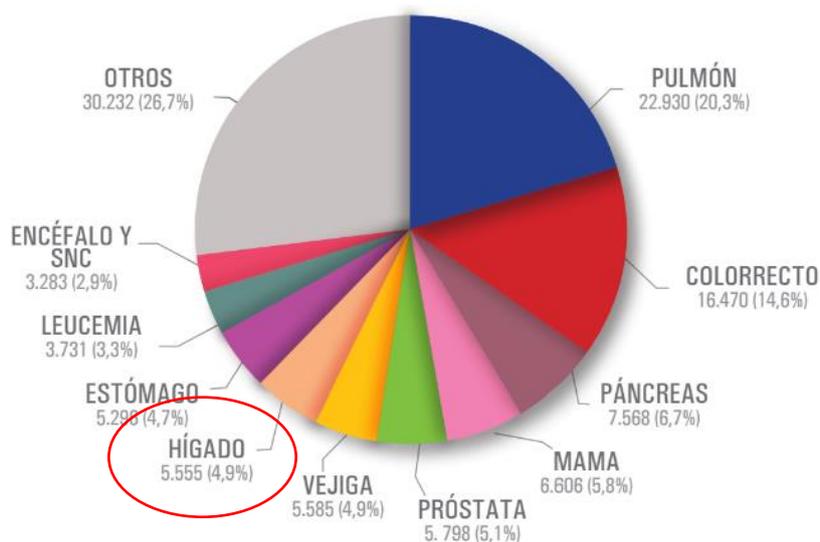


Figura 18: Tipos de cáncer responsables de mayor mortalidad en España. Estimación para el año 2020, ambos sexos. Fuente: *Global cancer Observatory* (<http://gco.iarc.fr/>) © *International Agency for Research on Cancer 2020*.

Los cánceres responsables del mayor número de fallecimientos a nivel mundial fueron el cáncer de pulmón (18,0 % del total de muertes por cáncer), el cáncer colorrectal (9,4 %), el cáncer hepático (8,3 %), el cáncer de estómago (7,7 %) y el cáncer de mama (6,9 %) (Figura 17). Comparando la mortalidad estimada a nivel mundial y en España, en nuestro país se estima una mayor proporción de fallecimientos por cáncer de pulmón (20,3 %), de colon y recto (14,6 %) y de páncreas (6,7 %), y por el contrario una menor mortalidad proporcional por cáncer hepático (4,9 %) y cáncer gástrico (4,7 %) (Figura 18).

El diagnóstico del CHC se basa en los resultados de los análisis de sangre y en las pruebas de diagnóstico por imagen. Este tipo de tumor suele ser mortal a menos que se diagnostique de forma precoz, por lo que se han realizado numerosos intentos de comprender la enfermedad a nivel molecular y desarrollar tratamientos que resulten efectivos para pacientes que lo poseen. Debido a esto es esencial la búsqueda de nuevas terapias eficaces para su tratamiento, uno de los nuevos objetivos prometedores son los lncRNAs, los cuales se encuentran involucrados en etapas de desarrollo y progresión del cáncer (Unfried *et al.*, 2021).

Se han descrito al menos 64 lncRNAs desregulados en pacientes con carcinoma hepatocelular (Lim *et al.*, 2019), algunos de los cuales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Resumen de lncRNAs y sus funciones en CHC. Fuente: Wu *et al.*, 2017.

lncRNAs	Funciones biológicas y relevancia clínica
HOTAIR	Biomarcador potencial para el pronóstico del CHC y objetivo importante para su terapia.
H19	Suprime la progresión y la metástasis del CHC.
HULC	Biomarcador potencial para el diagnóstico y la predicción pronóstica del CHC.
MALAT1	Promueve la progresión del tumor y es un posible biomarcador para predecir la recurrencia de CHC.
MEG3	Suprime el crecimiento celular e induce la apoptosis.
lncRNA-LET	Inhibe la metástasis de CHC y es un supresor tumoral, que podría ser una diana terapéutica del CHC.
MVIH	Promueve el crecimiento tumoral y la metástasis intrahepática, además predice una pobre supervivencia libre de recurrencia.
HEIH	Factor pronóstico para predecir la recurrencia tumoral del CHC relacionado con el VHB.
Dreh	Inhibe el crecimiento y la metástasis de CHC.
MDIG	Indica pronóstico desfavorable.

El papel de los lncRNA en el desarrollo y progresión del CHC es extremadamente variado como se puede observar en la Figura 19.

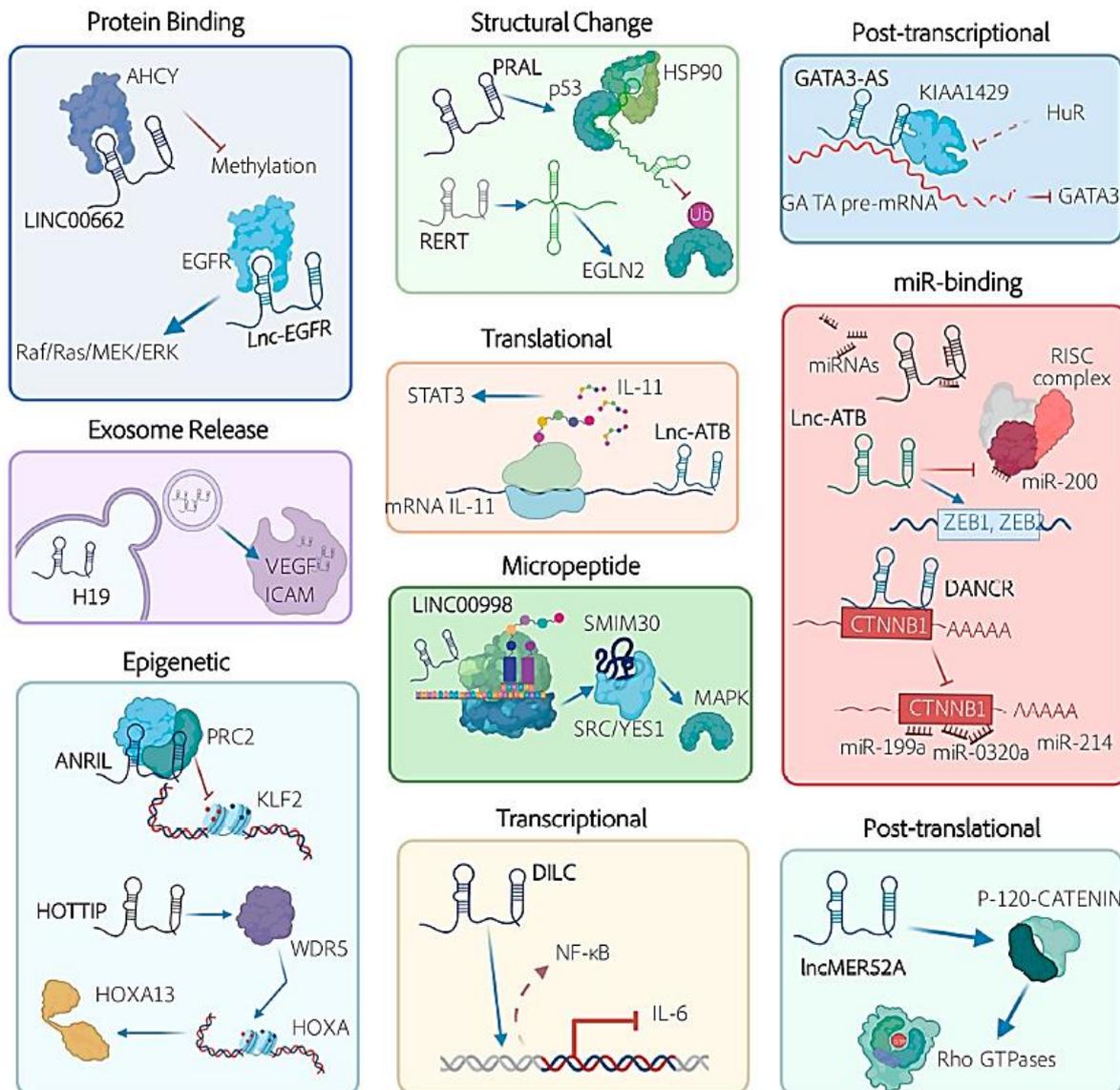


Figura 19: Mecanismo de acción de diversos lncRNAs potencialmente implicados en el desarrollo y progresión del CHC. Las flechas azules indican activación y las rojas inhibición. Fuente: Unfried *et al.*, 2021.

En este caso hablaremos de tres lncRNAs destacados por ser buenos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad. HULC (*hepatocellular carcinoma up-regulated long non-coding RNA*), HOTAIR y MEG3 (*lncRNA maternally expressed gene 3*), considerados los más importantes por su intervención en el CHC y por sus importantes resultados como biomarcadores.

Panzitt junto con otros investigadores en 2007 identificaron originalmente a HULC como el lncRNA más sobreexpresado en el CHC humano (Panzitt *et al.*, 2007). Lo demostraron realizando un experimento donde se seleccionó una serie de genes específicos de CHC con el

objetivo de detectar genes desregulados, utilizando 46 genes de CHC, 4 hiperplasias nodular focal, 7 cirrosis y 2 muestras de hígado no neoplásicas. Descubrieron que HULC aumenta en el momento de la cirrosis pasando por una neoplasia focal hasta el CHC. Además de Panzitt, Wang y otros investigadores confirmaron la regulación positiva de HULC en CHC y para ello utilizaron 14 tipos de tejidos tumorales y paratumorales mediante transcripción inversa (RT)-PCR en tiempo real (Yu *et al.*, 2017). Por todo ello, se supo que HULC era capaz de promover diferentes fenotipos protumorigénicos como por ejemplo aumento de la supervivencia celular, proliferación celular, y angiogénesis (Yu *et al.*, 2017). HULC va a promover la aparición de tumores a partir de la regulación de múltiples vías (Figura 20), entre ellas, la inhibición de EEF1E1, la promoción del metabolismo anormal de los lípidos y la activación de la esfingosina quinasa 1 (SK1). Si tomamos como ejemplo el caso de la regulación de la esfingosina quinasa 1 podemos indicar que previamente numerosos estudios sugirieron que la regulación de los niveles de estos esfingolípidos a través de SK1 tiene un importante papel en la carcinogénesis (Yu *et al.*, 2017). De hecho, se ha encontrado una correlación significativa entre los niveles de HULC y los niveles de actividad SK1 y su producto (esfingosina-1-fosfato) durante la evolución del CHC (Yu *et al.*, 2017).

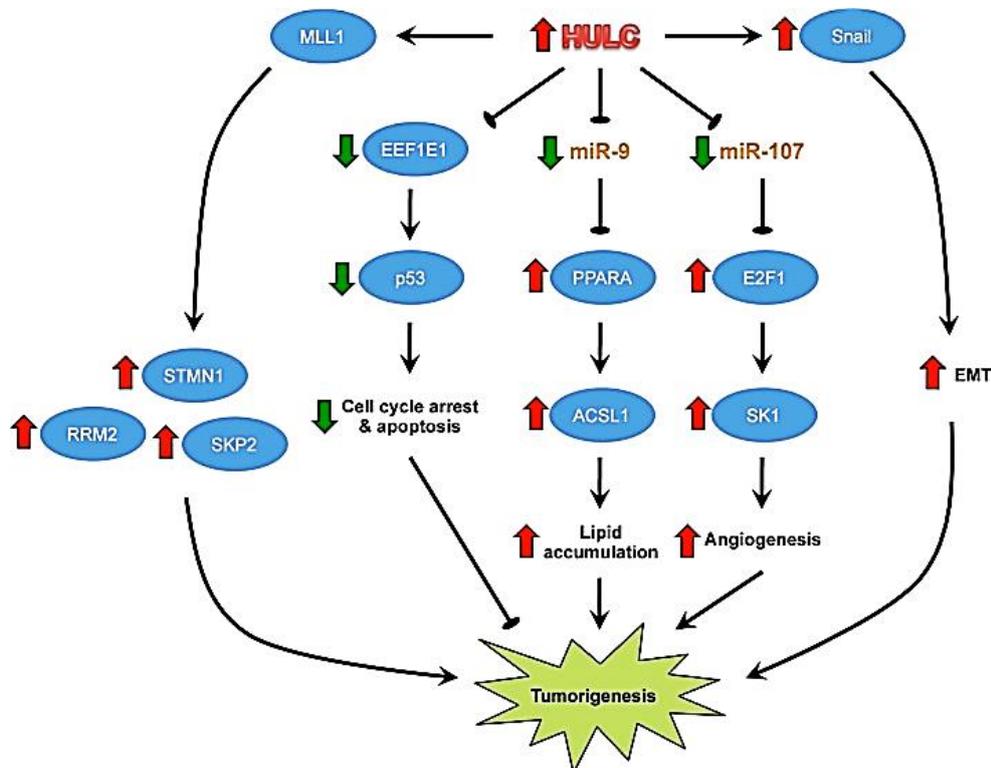


Figura 20: Rutas oncogénicas activadas por HULC en células CHC. EMT: transición epitelio-mesénquima. Fuente: Yu *et al.*, 2017.

HOTAIR, fue descubierto por Rinn *et al.* en 2007, se transcribe a partir del locus HOXC, localizado entre HOXC12 y HOXC11 en el cromosoma 12q13.13 (Figura 21). Lleva a cabo funciones biológicas a través del reclutamiento de los complejos PRC2 y LSD1 en los genes diana, donde reprimirá su expresión. En el caso de PRC2, es necesario para el silenciamiento de algunos genes supresores de tumores, posee 3 componentes, entre ellos EZH2 que se encuentra regulado al alza en las células de CHC. La sobreexpresión de EZH2 es capaz de inactivar varios miRNA supresores de tumores y además está relacionado con un resultado clínico negativo en pacientes con este tipo de cáncer. Otro de sus componentes es SUZ12, el cual posee una importante función en la metilación de H3-K27 y en el silenciamiento génico y se encuentra regulado al alza en tumores hepáticos (Wu *et al.*, 2017).

En este proceso, también interviene el complejo LSD1, considerado un regulador importante del CHC, donde el incremento de su actividad está relacionada con estadios avanzados del cáncer y su sobreexpresión es considerada un indicador de mal pronóstico para pacientes con CHC primario (Wu *et al.*, 2017).

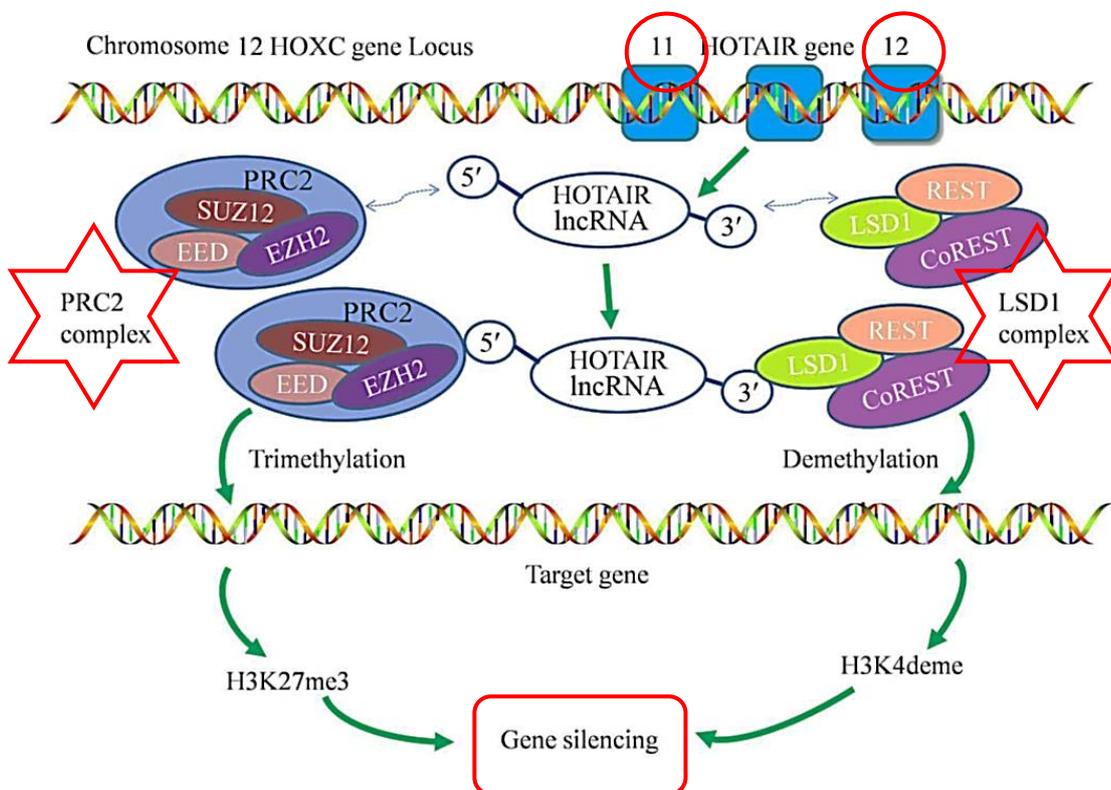


Figura 21: Mecanismo de la acción silenciadora génica de HOTAIR. Fuente: Wu *et al.*, 2017.

En la mayoría de los casos HOTAIR interviene en el desarrollo de CHC regulando directa o indirectamente el funcionamiento de microRNAs (miRNA). En el caso de la regulación indirecta, HOTAIR es capaz de silenciar la expresión de miRNAs al unirse con PRC2 formando un complejo silenciador, el cual se dirige a la región promotora de los genes correspondientes. En cambio, en el caso de la regulación directa, HOTAIR actúa como ceRNA pudiendo adsorber competitivamente una variedad de miRNAs, disminuyendo la inhibición de éstos en la expresión del mRNA objetivo (Figura 22). El desequilibrio generado entre HOTAIR y los miRNAs tiene un importante papel tanto en la aparición como en el desarrollo de tumores (Wang *et al.*, 2022).

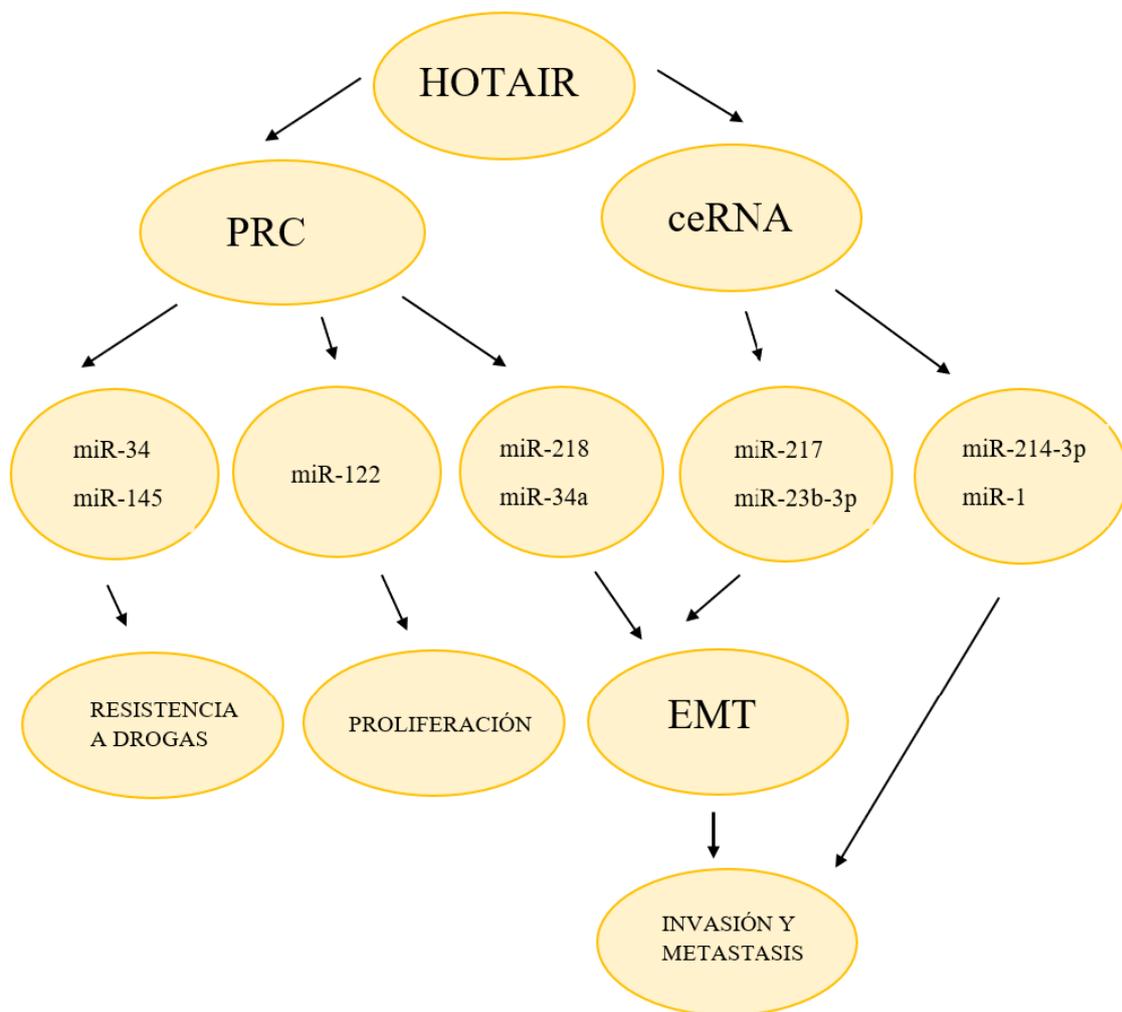


Figura 22: HOTAIR regula miRNAs al unirse a PRC2 o por adsorción competitiva, promoviendo la proliferación, invasión, metástasis y resistencia a los medicamentos de las células de CHC. Fuente: Wang *et al.*, 2022.

Como ejemplo de un lncRNA que suprima el crecimiento celular e induzca la apoptosis durante el CHC tenemos a MEG3. El gen se encuentra localizado en la región de impronta DLK1-

MEG3 del cromosoma 14. La zona DLK1-MEG3 tiene dos regiones metiladas diferencialmente (DMR), una denominada DMR intergénica (IG-DMR) y otra MEG3-DMR, la cual se encuentra superpuesta con *MEG3* (He *et al.*, 2017).

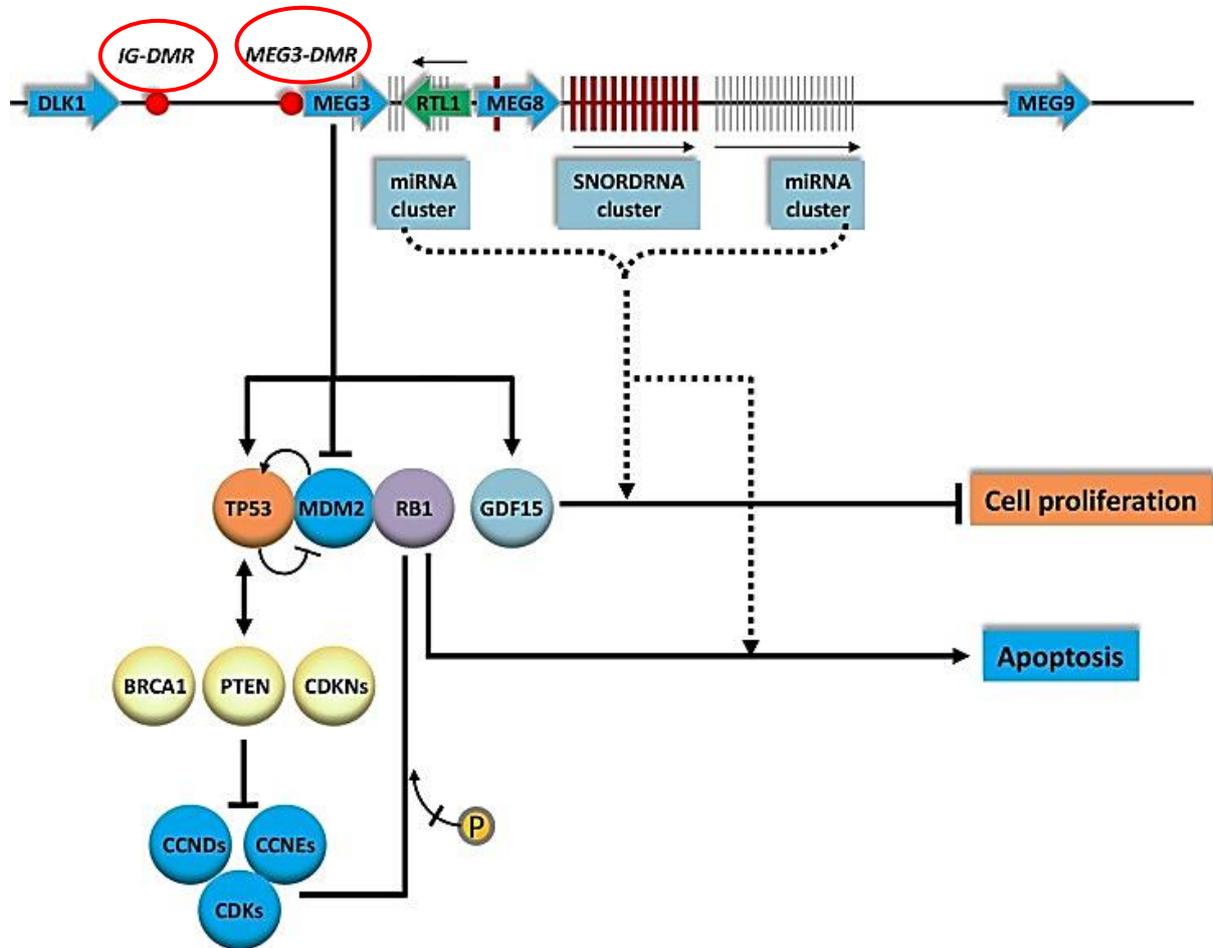


Figura 23: Organización genómica y participación de *MEG3* en el desarrollo del cáncer. Fuente: He *et al.*, 2017.

MEG3 durante el CHC se encuentra regulado negativamente en los tejidos. Además, su sobreexpresión inhibe la proliferación de la célula Huh7 (línea celular de hígado humano) a través de la modulación negativa de miRNA-664, lo que conlleva a la reducción del crecimiento tumoral, la invasión y la metástasis. *MEG3* también puede funcionar como un inhibidor de tumores porque induce la acumulación de la proteína TP53 mediante la represión del gen *MDM2*, cuya producto degrada TP53. También se ha demostrado que incluso en ausencia de TP53, la expresión de *MEG3* tiene efectos antitumorales por vías alternativas que inhiben la proliferación celular y activan la apoptosis (He *et al.*, 2017; Abbastabar *et al.*, 2018).

Por tanto, los lncRNAs ejercen funciones esenciales en diferentes puntos de CHC. Son objetivos terapéuticos en medicina de precisión, la cual tiene como objetivo personalizar la

atención médica con tratamientos adaptados a cada individuo de diferentes formas. Se destaca que no todos los lncRNAs son funcionalmente relevantes, únicamente una fracción de ellos, en el caso del CHC existen lncRNAs que ofrecen una ventaja en la actividad de las células cancerosas. Aparte de ser importantes en medicina de precisión son buenos biomarcadores para el diagnóstico y la priorización de pacientes. En aquellos pacientes con algún tipo de cáncer en general se suelen emplear como biomarcadores convencionales a AFP, a la fracción de lectina de AFP o a la descarboxi- γ -protrombina, pero carecen de especificidad y de sensibilidad. Por ello es necesario investigar marcadores más efectivos para el estadio y la progresión de la enfermedad. Existen estudios que han analizado biomarcadores de lncRNA en este tipo de cáncer, donde se ha demostrado que pueden detectarse en vesículas extracelulares (VE), células inmunitarias circulantes o lncRNA libres de células en el plasma o suero de los enfermos, lo que permitirá el empleo de biopsias líquidas para controlar periódicamente el estado del paciente (Unfriend *et al.*, 2021). En un corto periodo de tiempo, la orientación terapéutica de los lncRNAs se convertirá en prácticas clínicas estándar, siendo una herramienta fundamental para enfrentarse al CHC (Unfriend *et al.*, 2021).

5. CONCLUSIONES

Durante varios años se han realizado numerosas investigaciones sobre los lncRNAs. Esto ha llevado al descubrimiento de diferentes tipos de moléculas con una gran importancia en enfermedades humanas como el cáncer. Los lncRNAs son moléculas que se encuentran implicados en las 10 características del cáncer (mantenimiento de las señales proliferativas, evasión de supresores de crecimiento, evitar la destrucción inmune, activador de la inmortalidad replicativa, inflamación producida por los tumores, activación de invasión y metástasis, inducción de angiogénesis, inestabilidad y mutación del genoma, resistencia a la muerte celular y desregulación de la energía celular) y su expresión se encuentra alterada en la gran parte de cánceres estudiados.

Por todo esto, el estudio de los lncRNAs tanto en la actualidad como en el futuro supone una herramienta prometedora para el diseño y desarrollo de tratamientos contra el cáncer basados en estas moléculas. Además, desde un punto de vista práctico, su detección y abundancia pueden ser de gran utilidad para acelerar el diagnóstico y pronóstico del cáncer, y de este modo

tener herramientas alternativas para luchar contra una de las 10 primeras causas de muerte en el mundo.

Referencias bibliográficas

- Abbastabar, M., Sarfí, M., Golestani, A. y Khalili, E. (2018) “lncRNA involvement in hepatocellular carcinoma metastasis and prognosis”, *EXCLI journal*, 17: 900.
- Arun, G., Aggarwal, D. y Spector, D. L. (2020) “MALAT1 long non-coding RNA: Functional implications”, *Non-coding RNA*, 6(2): 22.
- Alonso, P. F. (2022) “RNAs no codificantes en hepatocarcinoma y otras enfermedades hepáticas”, *Grupo de Investigación Cima*, <https://cima.cun.es/investigacion/programas-investigacion/programa-investigacion-terapia-genica/grupo-investigacion-rna-no-codificante-hepatocarcinoma>. (Accedido: 20 de abril de 2022).
- Bach, D. H. y Lee, S. K. (2018) “Long noncoding RNAs in cancer cells”, *Cancer letters*, 419, pp. 152-166.
- Calero, F. E. E., Venegas, O. C. y Cevallos, V. I. (2021) “Carcinoma hepatocelular. Diagnóstico diferencial”, *RECIAMUC*, 5(3), pp. 54-62.
- Carvalho de Oliveira, J., Oliveira, L. C., Mathias, C., Pedroso, G. A. *et al.* (2019) “Long non-coding RNAs in cancer: another layer of complexity”, *The journal of gene medicine*, 21(1): e3065.
- Chen, L., Qian, X., Wang, Z., Zhou, X. (2021) “The lncRNA: HOTAIR remarkable oncogenic promoter in human cancer metastasis (Review)”, *Oncology letters* 21: 302.
- Chowdhary, A., Satagopam, V. y Schneider, R. (2021) “Long non-coding RNAs: mechanisms, experimental, and computational approaches in identification, characterization, and their biomarker potential in cancer”, *Frontiers in genetics*, 12, pp. 770.
- Degli Esposti, D., Hernandez-Vargas, H., Voegelé, C., Fernandez-Jimenez, N. *et al.* (2016) “Identification of novel long non-coding RNAs deregulated in hepatocellular carcinoma using RNA-sequencing”, *Oncotarget*, 7(22): 31862.
- De Martino, M., Esposito, F. y Pallante, P. (2021) “Long non-coding RNAs regulating multiple proliferative pathways in cancer cell”, *Translational cancer research*, 10(6): 3140.
- Department, S. R. (2021) “Tipos de cáncer más frecuentes en España en 2021” , *Statista*, <https://es.statista.com/estadisticas/665365/numero-de-nuevos-casos-de-cancer-por-tipo-en-espana/>. (Accedido: 10 de mayo de 2022).
- DiStefano, J. K. (2017) “Long noncoding RNAs in the initiation, progression, and metastasis of hepatocellular carcinoma”, *Non-coding RNA research*, 2(3-4), pp. 129-136.
- Elling, R., Robinson, E. K., Shapleigh, B., Liapis, S. C. *et al.* (2018) “Genetic models reveal cis and trans immune-regulatory activities for lincRNA-Cox2”, *Cell reports*, 25(6), pp. 1511-1524.
- Esposti, D. D., Hernández-Vargas, H., Voegelé, C., Fernández-Jiménez *et al.* (2016) “Identificación de nuevos ARN largos no codificantes desregulados en carcinoma hepatocelular mediante secuenciación de ARN”, *Oncotarget*, 7(22), pp. 31862–31877.
- Gianni, M., Ponzanelli, I., Mologni, L., Reichert, U. *et al.* (2000) “Retinoid-dependent growth inhibition, differentiation and apoptosis in acute promyelocytic leukemia cells. Expression and activation of caspases”, *Cell death & differentiation*, 7(5), pp. 447-460.
- Gupta, S. C., Awasthee, N., Rai, V., Chava, S. *et al.* (2020) “Long non-coding RNAs and nuclear factor- κ B crosstalk in cancer and other human diseases”, *Biochimica et biophysica acta (BBA)-reviews on cancer*, 1873(1): 188316.

- He, Y., Luo, Y., Liang, B., Ye, L. *et al.* (2017) "Potential applications of MEG3 in cancer diagnosis and prognosis", *Oncotarget*, 8(42): 73282.
- He, Y., Meng, X.M., Huang, C., Wu, B.M. *et al.* (2014) "Long non-coding RNAs: New insights into hepatocellular carcinoma", *Letters about cancer*, 344(1), pp. 20–27.
- Kotake, Y., Kitagawa, K., Ohhata, T., Sakai, S. *et al.* (2016) "Long non-coding RNA, PANDA, contributes to the stabilization of p53 tumor suppressor protein", *Anticancer research*, 36(4), pp. 1605-1611.
- Lee, J. T. (2012) "Epigenetic regulation by long noncoding RNAs", *Science*, 338(6113), pp. 1435-1439.
- Lim, L. J., Wong, S., Huang, F., Lim, S. *et al.* (2019) "Functions and regulation of long non-coding RNAs in hepatocellular carcinoma", *Cancer research*, 79(20), pp. 5131–5139.
- Lu, Z., Xiao, Z., Liu, F., Cui, M. *et al.* (2016) "Long non-coding RNA HULC promotes tumor angiogenesis in liver cancer by up-regulating sphingosine kinase 1 (SPHK1)", *Oncotarget*, 7(1): 241.
- Ma, L., Bajic, V. B. y Zhang, Z. (2013) "On the classification of long non-coding RNAs", *RNA biology*, 10(6), pp. 924-933.
- Mabeta, P., Rodney H. y Zodwa D. (2022) "LncRNAs and the angiogenic switch in cancer: clinical significance and therapeutic opportunities", *Genes* 13, 1: 152.
- Nelson, A. D. y Shippen, D. E. (2015) "Evolution of TERT-interacting lncRNAs: expanding the regulatory landscape of telomerase", *Frontiers in genetics*, 6: 277.
- Panzitt K, Tschernatsch MM, Guelly C, Moustafa T. *et al.* (2007) "Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA", *Gastroenterology*, 132(1), pp. 330–342.
- Pavese, J. M., Farmer, R. L. y Bergan, R. C. (2010) "Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein", *Cancer and metastasis reviews*, 29(3), pp. 465-482.
- Pu, H., Zheng, Q., Li, H., Wu, M. *et al.* (2015) "CUDR promotes liver cancer stem cell growth through upregulating TERT and C-Myc", *Oncotarget*, 6(38): 40775.
- Prensner, J. R. y Chinnaiyan, A. M. (2011) "The emergence of lncRNAs in cancer biology", *Cancer discovery*, 1(5), pp. 391-407.
- Sánchez, N. C. (2013) "Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer", *Revista médica clínica Las Condes*, 24(4), pp. 553-562.
- Schmitt, A. M. y Chang, H. Y. (2016) "Long noncoding RNAs in cancer pathways", *Cancer cell*, 29(4), pp. 452-463.
- Sellitto, A., Pecoraro, G., Giurato, G., Nassa, G. *et al.* (2021) "Regulation of metabolic reprogramming by long non-coding RNAs in cancer", *Cancers*, 13(14), 3485.
- SEOM (2022) "Las cifras del cáncer en España 2022". https://seom.org/images/LAS_CIFRAS_DEL_CANCER_EN_ESPANA_2022.pdf. (Accedido: 3 de marzo de 2022).
- Su Y., Gu X., Zheng Q, Zhu L. *et al.* (2022) "LncRNA PCGEM1 in human cancers: functions, mechanisms and promising clinical utility", *Frontiers in oncology*, 12:847745.
- Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L. y Huarte, M. (2021) "Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions", *Nature reviews molecular cell biology*, 22(2), pp. 96-118.
- Tang, J., Yan, T., Bao, Y., Shen, C. *et al.* (2019) "LncRNA GLCC1 promotes colorectal carcinogenesis and glucose metabolism by stabilizing c-Myc", *Nature communications*, 10(1), pp. 1-15.
- Tian, D., Sun, S. y Lee, J. T. (2010) "The long noncoding RNA, Jpx, is a molecular switch for X chromosome inactivation", *Cell*, 143(3), pp. 390-403.
- Unfried, J. P., Sangro, P., Prats-Mari, L., Sangro, B. *et al.* (2021) "The landscape of lncRNAs in hepatocellular carcinoma: a translational perspective", *Cancers*, 13(11): 2651.

- Wang, B. R., Chu, D. X., Cheng, M. Y., Jin, Y. *et al.* (2022) “Progress of HOTAIR-microRNA in hepatocellular carcinoma”, *Hereditary cancer in clinical practice*, 20(1), pp. 1-10.
- Wang, K. C. y Chang, H. Y. (2011) “Molecular mechanisms of long noncoding RNAs”, *Molecular cell*, 43(6), pp. 904-914.
- Wu, L., Zhang, L. y Zheng, S. (2017) “Role of the long non-coding RNA HOTAIR in hepatocellular carcinoma”, *Oncology letters*, 14(2), pp. 1233-1239.
- Wu Z., Wang Y. (2017) “ Studies of lncRNAs in DNA double strand break repair: what is new?”, *Oncotarget*, 8: pp. 102690-102704.
- Yaghoobi, H., Azizi, H., Oskoei, V. K., Taheri, M. *et al.* (2018) “Assessment of expression of interferon γ (IFN-G) gene and its antisense (IFNG-AS1) in breast cancer”, *World journal of surgical oncology*, 16(1), pp. 1-7.
- Yu, X., Zheng, H., Chan, M. T. y Wu, W. K. K. (2017) “HULC: an oncogenic long non-coding RNA in human cancer”, *Journal of cellular and molecular medicine*, 21(2), pp. 410-417.
- Yu, B. y Wang, S. (2018). “Angio-LncRs: LncRNAs that regulate angiogenesis and vascular disease”, *Theranostics*, 8(13): 3654.
- Zhao, H., Zhang, X., Frazão, J. B., Condino-Neto, A. *et al.* (2013) “HOX antisense lincRNA HOXA-AS2 is an apoptosis repressor in all trans retinoic acid treated NB4 promyelocytic leukemia cells”, *Journal of cellular biochemistry*, 114(10), pp. 2375-2383.
- Zhou, X., Chen, J. y Tang, W. (2014) “The molecular mechanism of HOTAIR in tumorigenesis, metastasis, and drug resistance”, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 46(12), pp. 1011-1015.