# REGULACIÓN DE LÁMINA A Y PROGERINA POR MIR-9 EN LA PROGERIA DE HUTCHINSON-GILFORD

**Andrea Melina Herrera Cancino, Ximena Elizabeth Ocampo Dzib, Ana Sofía Saide Suárez, Aleksandra Santamaría Jiménez**

Universidad Marista de Mérida

## Antecedentes

El síndrome de Hutchinson-Gilford (HGPS) es una enfermedad genética causada por una variante patogénica en el gen *LMNA*, que favorece la producción de progerina, una forma anómala de la proteína precursora de la lámina A, asociada con alteraciones de la morfología nuclear. Esta laminopatía progeriana se relaciona con efectos pleiotrópicos, ya que afecta múltiples tejidos y mecanismos celulares. Sin embargo, las células de linaje neural muestran una preservación funcional relativa. Jung *et al.,* (2012) identificaron que el microARN miR-9 regula la expresión de lámina A mediante mecanismos de represión de la traducción y degradación del ARNm.[2] A partir de este aporte, Nissan *et al.,* (2012) estudiaron modelos celulares humanos de HGPS y relacionaron la expresión de miR-9 con niveles reducidos de lámina A/progerina.[3]

## Objetivo

Analizar la regulación de la expresión de lámina A y progerina por el microARN miR-9 y su relación con la preservación relativa de las células neuronales en el síndrome de Hutchinson-Gilford.

## Metodología

**Realizar revisión bibliográfica transversal.**

**Identificar artículos en Pubmed.**

**Aplicar criterios de inclusión y exclusión, selección de 2 artículos.**

**Analizar variables**
- Expresión de miR-9
- Regulación de lámina A y progerina
- Reconocimiento de la región tres prima (3'UTR)
- Morfología nuclear

**Elaborar una síntesis cualitativa destacando la contribución de miR-9.**

## Resultados

### Mecanismo de acción de miR-9

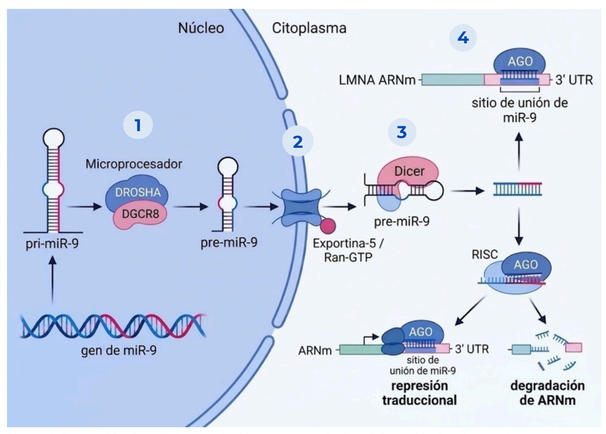



**Figura 1. Formación de miR-9 y regulación postranscripcional de prelámina A.** Creado con BioRender.com

1. El gen de miR-9 se transcribe para formar primiR-9, que es cortado por el complejo Drosha-CGCR8 para producir premiR-9.
2. La exportina-5, transporta premiR-9 del núcleo al citoplasma.
3. Dicer procesa premiR-9 para generar un ARN de doble cadena, del cual se selecciona miR-9 maduro.
4. miR-9 se incorpora al complejo RISC y reconoce secuencias específicas en la región 3'UTR del ARNm de prelámina A, una región que participa en la regulación de la expresión de la proteína.

El complejo RISC disminuye la expresión de prelámina A mediante la represión de su traducción y/o degradación de su ARNm, reduciendo así la producción de lámina A.

### Expresión de miR-9 en células derivadas de iPSC

Nissan *et al.,* (2012) observaron una baja expresión de láminas A/C en células madre neurales (NSC-iPSC) y neuronas obtenidas mediante la diferenciación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) (Figura 2A).[3]

Mediante RT-qPCR identificaron una mayor expresión de miR-9 en células NSC-iPSC, en comparación con los fibroblastos y las células mesenquimales, donde la expresión del microRNA fue mínima o ausente (Figura 2B).[3]

Al comparar las Figuras 2A y 2B, se observó que las células con mayor expresión de miR-9, como las neuronas y las NSC-iPSC, también presentaron una menor expresión de lámina A.[3]

### Regulación postranscripcional de lámina A/progerina y lámina C por miR-9

Tranfectaron premiR-9 sintético en células MSC-iPSC sanas y con HGPS permitiendo evaluar su efecto sobre lámina A/progerina (Figuras 3-A1 y 3-B1).[3]

Observaron una disminución de lámina A del 66% en células sanas y del 35% en células HGPS, además de una reducción del 38% de progerina. Por el contrario, los niveles de lámina C aumentaron, lo que evidenció el efecto selectivo de miR-9 sobre ambas proteínas (Figura 3-B1 y 3-B2).[3]

### Reconocimiento de la región 3'UTR

En células mesenquimales introdujeron luciferasa utilizando un plásmido con su secuencia unida a la región 3'UTR de lámina A. Al transfectar premiR-9, se observó una disminución del 40% en la actividad de luciferasa.[3]

Posteriormente, se modificó el sitio de reconocimiento de miR-9 en la región 3'UTR (Figura 4A), y se repitió el ensayo.[3]

Al modificar la secuencia, miR-9 perdió la capacidad de reducir la actividad de luciferasa (Figura 4B), confirmando que su efecto regulador depende del sitio específico.[3]

### Efectos de miR-9 sobre la morfología nuclear

En células MSC con HGPS, el uso de antimiR-9, para la inhibición de la acción de miR-9, mostró la prevalencia de las alteraciones nucleares (Figura 6A).[3]

Tras la transfección de premiR-9, el aumento de miR-9 se relacionó con una disminución significativa de las anomalías en la morfología nuclear, en comparación con el grupo control (Mock) (Figuras 5A y 5B).[3]

Sin embargo, la reducción de las anomalías fue dependiente de la dosis utilizada y las alteraciones no desaparecieron por completo (Figura 6B).[3]

2)

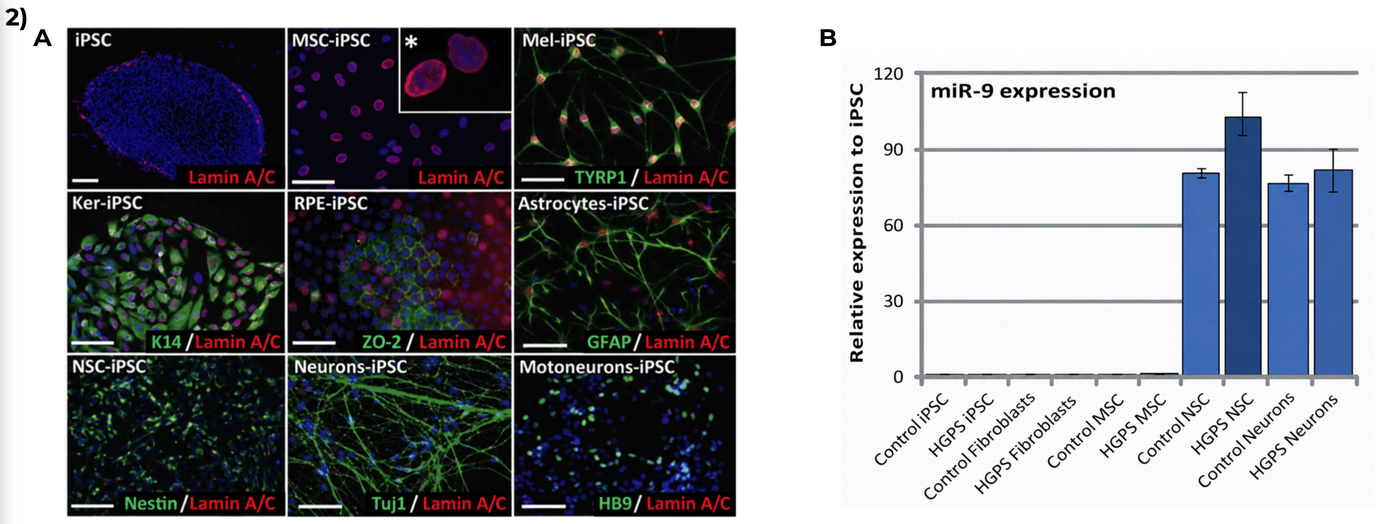



**Figura 2. Expresión de láminas A/C y miR-9 en distintos tipos celulares derivados de iPSC. (A)** Inmunotinción de láminas A/C (marcador rojo) en células fibroblásticas humanas de pacientes HGPS, posteriormente diferenciadas en células pluripotentes inducidas indiferenciadas (iPSC), células mesenquimales (MSC-iPSC), células neurales (NSC-iPSC) y otros derivados celulares. **(B)** RT-qPCR que muestra una mayor expresión de miR-9 en las células neurales. Adaptado de *Nissan et al*., (2012). [3]

3)

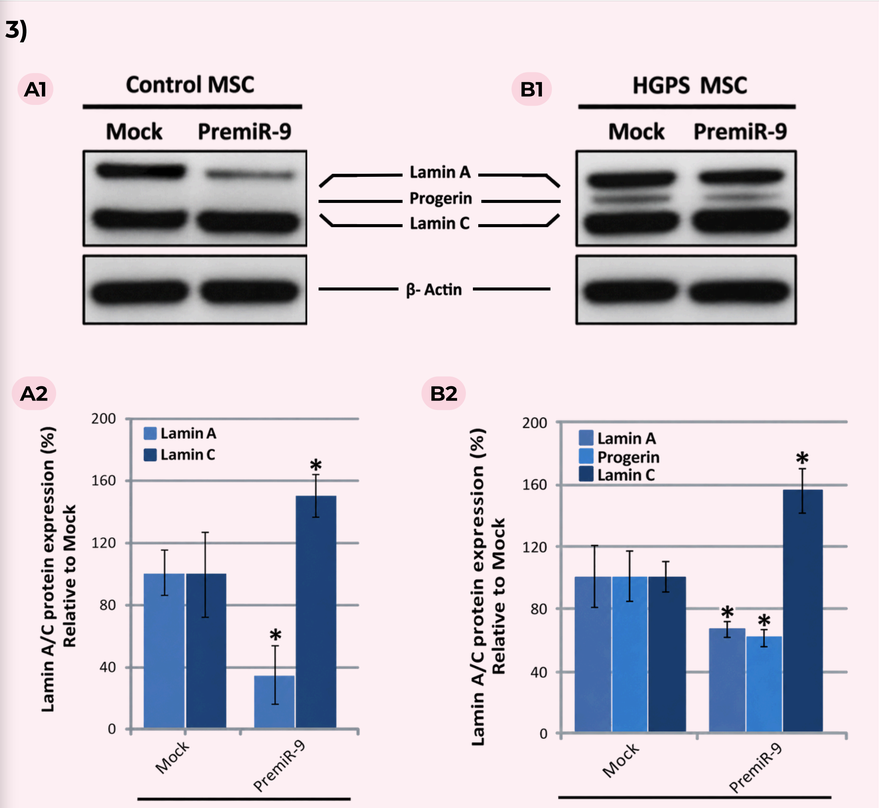



**Figura 3. Efecto de premiR-9 sobre los niveles de lámina A, lámina C y progerina. (A1, A2)** Western blot en células mesenquimales sanas (Control MSC) y en células mesenquimales de pacientes con HGPS (HGPS MSC). **(B1, B2)** Cuantificación gráfica de Western blot de células mesenquimales control y de pacientes con HGPS. Los asteriscos (*) indican diferencias estadísticamente significativas. Recuperado de Nissan *et al*., (2012).[3]

4)

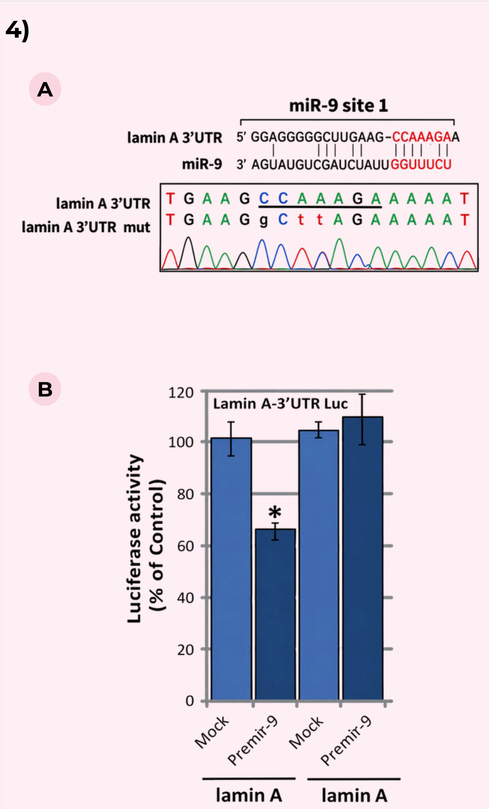



**Figura 4. Reconocimiento de la región 3'UTR de lámina A por miR-9. (A)** Secuencias originales y modificadas del sitio de reconocimiento. **(B)** Ensayo de luciferasa (bioluminiscencia) que muestra la pérdida del efecto regulador de miR-9 tras modificar los sitios de unión. Recuperado de Nissan *et al*., (2012).[3]

### Factores asociados en la conservación neuronal en HGPS

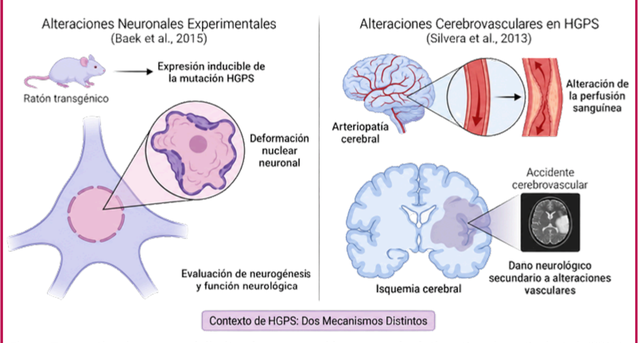



**Figura 7. Investigaciones que delimitan la preservación neuronal relativa.** Basado en Baek *et al.,* (2015) y Silvera *et al*., (2013). Creado con BioRender.com

5)

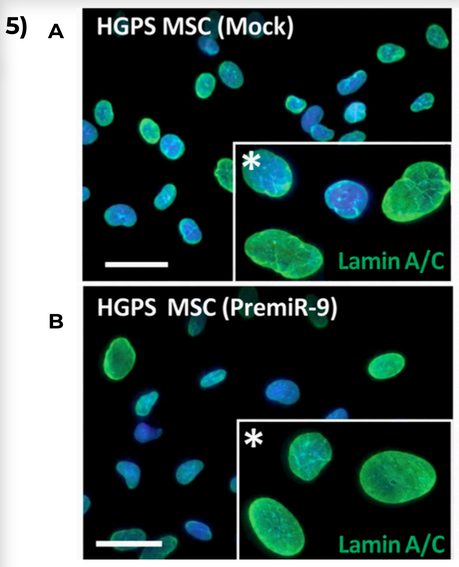



**Figura 5. Inmunotinción de láminas A/C en células MSC en pacientes con HGPS. (A)** Células mesenquimales HGPS Mock que presentan alteraciones en la morfología nuclear. **(B)** Células transfectadas con premiR-9 que presentan una mejoría en la morfología nuclear. Recuperado de Nissan *et al*., (2012).[3]

6)

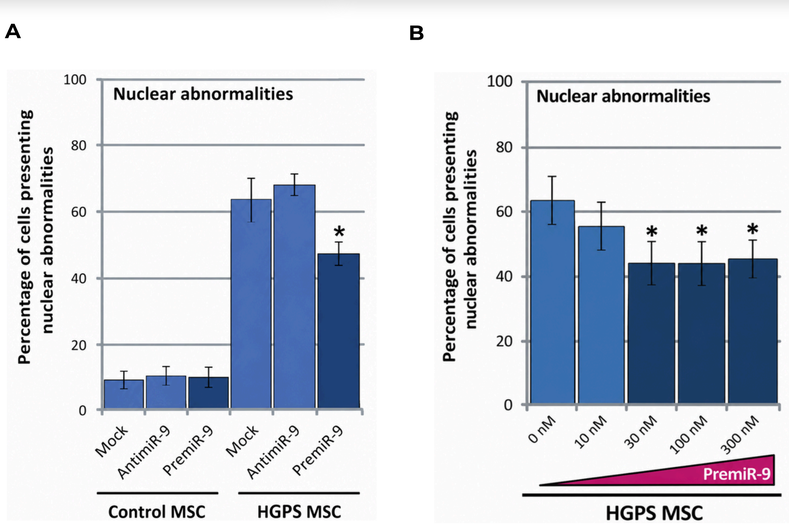



**Figura 6. Efecto de premiR-9 sobre las anomalías nucleares en células mesenquimales. (A)** Porcentaje de células con anomalías nucleares en células control y células HGPS Mock y transfectadas con antimiR-9 y premiR-9. **(B)** Porcentaje de anomalías nucleares en células HGPS tratadas con concentraciones en aumento de premiR-9. Recuperado de Nissan *et al*., (2012).[3]

## Discusión

Se determinó la disminución de lámina A y progerina por miR-9, sin embargo, el mecanismo no garantiza una protección neurológica absoluta. Otras investigaciones nos permiten considerar factores adicionales.[3]

Baek *et al.,* (2015) identificaron deformaciones nucleares en neuronas de ratones transgénicos con expresión inducible de la mutación HGPS. Los ratones no presentaron alteraciones significativas en pruebas de conducta y neurogénesis.[1]

Silvera *et al.,* (2013) documentaron arteriopatías e infartos cerebrales en pacientes con HGPS y se relacionaron con un incremento de la vulnerabilidad del funcionamiento neurológico.[1, 4]

## Conclusión

Las investigaciones indican que miR-9 regula la expresión de lámina A y progerina mediante su interacción con la región 3'UTR del ARNm de prelámina A, lo que disminuye sus niveles y se asocia con una reducción parcial de las anomalías nucleares en células con HGPS. Este mecanismo podría explicar la preservación relativa de las células neurales en el HGPS, aunque no evita por completo las alteraciones celulares ni las complicaciones cerebrovasculares, por lo que la participación de miR-9 representa una posible explicación molecular, pero no una protección neurológica absoluta.

## Referencias

1.Baek JH, Schmidt E, Viceconte N, Strandgren C, Pernold K, Richard TJC, *et al*. Expression of progerin in aging mouse brains reveals structural nuclear abnormalities without detectible significant alterations in gene expression, hippocampal stem cells or behavior. Hum Mol Genet. 2015;24(5):1305-21. 2. Jung HJ, Coffinier C, Choe Y, Beigneux AP, Davies BSJ, Yang SH, *et al*. Regulation of prelamin A but not lamin C by miR-9, a brain-specific microRNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(7):E423-31. 3. Nissan X, Blondel S, Navarro C, Maury Y, Denis C, Girard M, et al. Unique preservation of neural cells in Hutchinson-Gilford progeria syndrome is due to the expression of the neural-specific miR-9 microRNA. Cell Rep. 2012;2(1):1-9. 4. Silvera VM, Gordon LB, Orbach DB, Campbell SE, Machan JT, Ullrich NJ. Imaging characteristics of cerebrovascular arteriopathy and stroke in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. AJNR Am J Neuroradiol. 2013;34(5):1091-7.