

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO
CURSO DE BIOMEDICINA

Ana Carolina Camargo Rivera

**RNA LONGO NÃO CODIFICANTE: DE RUÍDO TRANSCRICIONAL A
DESCOBERTA DE PAPEL BIOLÓGICO**

São Paulo

2023

Ana Carolina Camargo Rivera

**RNA LONGO NÃO CODIFICANTE: DE RUÍDO TRANSCRICIONAL A
DESCOBERTA DE PAPEL BIOLÓGICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Fábio Mitsuo Lima, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pelas Bibliotecas São Camilo

Rivera, Ana Carolina Camargo

RNA longo não codificante: de ruído transcricional a descoberta de papel biológico / Ana Carolina Camargo Rivera. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2023.

46 p.

Orientação de Fábio Mitsuo Lima.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2023.

1. 1. DNA 2. Elementos reguladores de transcrição 3. Expressão gênica 4. Perfilação da expressão gênica 5. RNA longo não codificante I. Lima, Fábio Mitsuo II. Centro Universitário São Camilo III. Título

2.

3. CDD: 574.8

Ana Carolina Camargo Rivera

**RNA LONGO NÃO CODIFICANTE: DE RUÍDO TRANSCRICIONAL A
DESCOBERTA DE PAPEL BIOLÓGICO**

Professor Orientador: **Dr. Fábio Mitsuo Lima**

Professor Examinador: **MSc. Rodrigo Vela**

Professora Examinadora: **Dra. Andrea Midory Miyake**

RESUMO

O tradicional dogma da biologia molecular é baseado que o fluxo de informações genéticas provem do DNA transcrito em RNA, este é traduzido em proteínas, porém, isso ocorre em menos de 2% de todo gene traduzido, em sua maioria o RNA é o produto final desse fluxo de informações. O RNA longo não codificante (lncRNA) foi, durante muito tempo, considerado um produto de transcrição sem função biológica relevante, sendo classificado como ruído (Mercer, Dinger; Mattick, 2009). No entanto, estudos recentes mostraram que os lncRNAs desempenham funções cruciais em diversos processos celulares, como a regulação da expressão gênica e a organização nuclear.

A descoberta dos lncRNAs começou na década de 1990, mas foi apenas nas últimas duas décadas que os avanços tecnológicos permitiram a identificação e análise dessas moléculas com maior precisão (Laurent; Wahlested; Kapranov, 2015)

Métodos baseados em transcriptômica e epigenômica são utilizados para identificação e caracterização de lncRNAs, embora ainda haja limitações na interpretação desses dados.

Os lncRNAs foram classificados em diversas subclasses principalmente com base em suas características estruturais, funcionais e por localização. Eles têm sido implicados em vários processos biológicos, como diferenciação celular, desenvolvimento embrionário e doenças humanas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas.

A importância dos lncRNAs no diagnóstico de doenças tem sido cada vez mais reconhecida. Por exemplo, a detecção de certos lncRNAs pode ser usada para o diagnóstico precoce e a prognóstico de câncer como a detecção do transcrito PVT1 que está coaumentada com o gene MYC, um proto-oncogene (Baljon, 2023). Essa relação entre lncRNA e neoplasias demonstram potencial como alvos terapêuticos, oferecendo perspectivas futuras para a medicina personalizada.

Nesta revisão de literatura o objetivo é apresentar e resumir as funções do lncRNA e sua relação com as doenças não transmissíveis humanas, utilizando como metodologia a revisão em site de bases científicas como PubMed, ScienceDirect e publicações em revistas científicas da Nature e Cell Press.

Palavras-chave: RNA longo não codificante.; DNA; Expressão gênica; Regulação transcricional; Transcriptômica

ABSTRACT

The traditional dogma of molecular biology is based on the concept that the flow of genetic information originates from DNA transcribed into RNA, which is then translated into proteins. However, this process accounts for less than 2% of the entire translated gene, with RNA mostly serving as the final product of this information flow. Long non-coding RNA (lncRNA) has long been considered a transcription product with no significant biological function, often classified as transcriptional noise (Mercer, Dinger; Mattick, 2009). Nevertheless, recent studies have shown that lncRNAs play crucial roles in various cellular processes, such as gene expression regulation and nuclear organization.

The discovery of lncRNAs began in the 1990s, but it was only in the past two decades that technological advancements allowed for more precise identification and analysis of these molecules (Laurent; Wahlested; Kapranov, 2015). Transcriptomic and epigenomic-based methods are employed for the identification and characterization of lncRNAs, although there are still limitations in interpreting this data.

lncRNAs have been classified into various subclasses primarily based on their structural and functional characteristics as well as their localization. They have been implicated in various biological processes, including cell differentiation, embryonic development, and human diseases, including cancer, cardiovascular diseases, and neurodegenerative disorders.

The significance of lncRNAs in disease diagnosis has been increasingly recognized. For example, the detection of certain lncRNAs can be used for early diagnosis and prognosis of cancer, such as the detection of the PVT1 transcript, which is co-elevated with the MYC gene, a proto-oncogene (Baljon, 2023). This relationship between lncRNA and neoplasms demonstrates their potential as therapeutic targets, offering future prospects for personalized medicine.

In this literature review, the objective is to present and summarize the functions of lncRNA and its relationship with non-communicable human diseases, using a methodology that involves reviewing scientific databases such as PubMed, ScienceDirect, and publications in scientific journals from Nature and Cell Press.

Keywords: Long non-coding RNA; DNA; Gene expression; Transcriptional regulation. Transcriptomics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Resumo dos Marcos históricos que impactaram na descoberta e desenvolvimento do lncRNA	19
Figura 2 - Representação gráfica da evolução de anotações sobre os lncRNA depositados no GENCODE.....	20
Figura 3 - A figura ilustra quatro classificações de lncRNA em relação aos genes codificadores de proteínas (PCGs).	204
Figura 4 - Mecanismo de Scaffold.....	25
Figura 5 – Mecanismo de Decoy.....	26
Figura 6 – Precursor de RNA curtos.	28
Figura 7 – Mecanismo de Guia.	29
Figura 8 - Regulação gênica em trans induzida pelo HOTAIR.....	30
Figura 9 - Esquema dos processos envolvendo os lncRNA e a regulação gênica...32	
Figura 10 - Representação esquemática adaptada do autor Julien Jarroux (2017). 34	
Figura 11 - Representação esquemática dos biomarcadores.....	346

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Exemplificação de alguns lncRNA e o papel biológico correlacionado.....	16
Tabela 2 – Exemplificação de alguns lncRNA e suas interações que fogem do Dogma Central da Biologia Molecular proposto em 1958.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

LncRNA - RNA longo não codificantes

mRNA - RNA mensageiro

miRNA - Micro RNA

PRC2 - Complexo Repressor Polycomb 2

Nt - Nucleotídeos

DNA - Ácido desoxirribonucleico

RNA - Ácido ribonucleico

NGS - Sequenciamento de nova geração

PGH - Projeto Genoma Humano

HARs - Regiões aceleradas humanas

RNP - ribonucleoproteína

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVO.....	12
3. METODOLOGIA.....	13
4. DESENVOLVIMENTO	14
4.1 DEFINIÇÃO E IMPORTÂNCIA DOS lncRNAs	14
4.2. LINHA DO TEMPO DA TRANSCRIPTÔMICA.....	16
4.3. DESAFIOS TECNOLÓGICOS NA IDENTIFICAÇÃO	20
4.4. PRINCIPAIS CLASSES E SUBCLASSES.....	23
4.5. MECANISMOS DE AÇÃO DO lncRNA.....	25
4.6. lncRNA E SUA RELAÇÃO COM A EXPRESSÃO GÊNICA	29
4.7. A EVOLUÇÃO DO DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA MOLECULAR.....	33
4.8 POTENCIAL DE BIOMARCADOR.....	35
4.9 PERSPECTIVAS FUTURAS	37
5. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40

1.INTRODUÇÃO

O RNA longo não codificante (lncRNA) é uma classe de moléculas de RNA que são transcritas a partir do DNA, mas não são traduzidas em proteínas e possuem mais de 200 nucleotídeos. Apesar de inicialmente terem sido considerados um ruído transcricional somente tolerado pelo organismo, pesquisas recentes demonstraram que os lncRNAs desempenham uma variedade de funções biológicas importantes na regulação da expressão gênica, organização nuclear e interação com outras moléculas (Alberts, 2017). Esses transcritos interagem com uma variedade de moléculas, formando complexos RNA-proteína, RNA-DNA e RNA-RNA.

A descoberta e caracterização dos lncRNAs foi possibilitada pelo avanço tecnológico em métodos de sequenciamento e análise de RNA, bem como em técnicas de epigenômica e bioinformática (Laurent; Wahlested; Kapranov, 2015). Este trabalho de revisão se propõe a apresentar, de maneira não exaustiva e de fácil compreensão, o estado atual do conhecimento sobre os lncRNAs, desde a descoberta inicial de alguns poucos exemplares funcionais até a identificação de milhares de novas moléculas em mamíferos. Será discutido a história da descoberta dos lncRNAs, os métodos utilizados para sua identificação e caracterização, as principais classes e subclasses de lncRNAs e sua função biológica em processos celulares. Além disso, será abordado o envolvimento dos lncRNAs em diversas doenças humanas, como câncer, doenças cardiovasculares, autoimunes e neurodegenerativas, bem como as perspectivas futuras de sua utilização como alvos terapêuticos em diversas patologias.

2.OBJETIVO

Apresentar de forma objetiva o papel do RNA longo não codificante (lncRNA) e seus mecanismos de ação, apresentando a relação desses transcritos com doenças não transmissíveis e assim incentivar o uso desse novo conhecimento para melhorar as formas de diagnóstico e tratamento.

3.METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa a partir de artigos científicos publicados entre os anos de 2002 e 2023, nos idiomas português e inglês, e disponíveis nas bases de dados PubMed, ScienceDirect e publicações em revistas científicas como Nature e Cell Press. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave: RNA longo não codificante. RNA. DNA. Transcrição. Expressão gênica. Regulação transcricional. Transcriptômica

4. DESENVOLVIMENTO

4.1 DEFINIÇÃO E IMPORTÂNCIA DOS lncRNAs

Embora não sejam traduzidos em proteínas, os lncRNAs têm sido associados a uma ampla gama de processos biológicos e são fundamentais para o desenvolvimento e a homeostase dos organismos (ALBERTS, 2017)

A princípio os lncRNAs são definidos por serem RNA maiores que 200 nucleotídeos que não codificam proteínas (Zhang; Liu; Chen, 2020), alguns são transcritos pela RNA polimerase II e podem possuir cap 5' e cauda poli-A (Mallory; Shkumatava, 2015). Pode observar também que alguns dos lncRNAs sofrem splicing e podem ser pouco conservados quando comparados com outros RNA codificantes ou não codificantes (Chen; Wang, 2012).

A estimativa numérica do RNA longo não codificante (lncRNA) está sendo uma informação de difícil consenso entre os bancos de dados. Banco de dados com curadoria e anotação manual como o GENCODE estima que esses transcritos possuem 19.000 genes que são transcritos em lncRNA (Frankish; Carbonell-Sala; Diekhans, 2022), porém banco de dados com anotação automática como o NONCODE tem estimativas de 100.000 (Guigo, 2023). A importância dos lncRNAs tem sido amplamente reconhecida nas últimas décadas, e seu estudo tem se tornado um campo de pesquisa em rápido crescimento. Uma das funções mais estudadas dos lncRNAs é a regulação da expressão gênica e como biomarcadores oncológicos. Eles podem regular a expressão gênica tanto em nível transcricional quanto pós-transcricional (Bunch, 2018). Seu papel na regulação gênica é cada vez mais reconhecido como crucial em muitos processos biológicos.

Frequentemente são expressos de maneira específica em tecidos e células e podem ser usados como biomarcadores em diagnósticos e prognósticos de doenças, por exemplo, o lncRNA PCA3, quando encontrado em níveis elevados na urina de pacientes, demonstra uma acurácia de 80% em identificar casos de câncer de próstata (Najafi, 2022) . Com isso, o avanço nas pesquisas sobre os lncRNAs tem o potencial de fornecer informações valiosas sobre o funcionamento do organismo humano, bem como sobre o diagnóstico e tratamento de diversas doenças.

As Regiões Aceleradas Humanas (HARs) são partes do genoma que são conservadas ao longo da evolução, mas que acumularam mudanças específicas nos humanos. Estudos sobre como as HARs afetam o desenvolvimento cerebral e os fenótipos cerebrais adultos têm crescido significativamente nos últimos anos (Guardiola-Ripoll, 2023). Uma das pesquisas sobre o tema destaca a presença de lncRNA específicos na evolução cerebral. Essas pesquisas se baseiam em analisar as diferenças entre as espécies humanas e os chimpanzés nas regiões humanas aceleradas (HARs). A hipótese de que lncRNAs desempenharam um papel crítico no desenvolvimento do tamanho relativo do cérebro e da capacidade cognitiva são suportadas por: (a) esses lncRNA serem altamente conservados entre as espécies no tecido do cérebro, contrariando a sua natureza instável, exceto quando analisado no tecido encefálico humano. Nesses *loci* os lncRNA sofreram alterações comparados aos seus ortólogos; (b) Em testes *in vitro* foram observados que os lncRNA fazem parte do processo de diferenciação das células pluripotentes relacionadas a linhagens neuronais (Clark; Blackshaw, 2017). Contudo, essas pesquisas ainda carecem de mais dados para comprovar que os dados *in vitro* são reprodutíveis *in vivo*.

Os lncRNAs também têm sido implicados na organização nuclear e na interação com outras moléculas. Eles podem interagir com proteínas, DNA e RNA para modular a expressão gênica e outras funções celulares. Alguns lncRNAs são capazes de modular a cromatina, afetando assim a acessibilidade do DNA para os fatores de transcrição, como por exemplo a supressão do gene P53 e pela metilação das histonas pelo Complexo Repressor Polycomb 2 (PCR2) causado pela presença do lncXist (Kung; Colognori; Lee, 2013).

Os mecanismos moleculares pelos quais os lncRNAs regulam a expressão gênica são diversos e ainda estão sendo investigados. Algumas das maneiras pelas quais os lncRNAs regulam a expressão gênica incluem a interferência no splicing (Clark; Blackshaw, 2017), modulando a resposta pós traducional regulada pelos miRNA (Kung; Colognori; Lee, 2013). Os lncRNAs também podem afetar a estabilidade do mRNA e a degradação do RNA (Zhang; Liu; Chen, 2020), bem como a modulação da atividade de proteínas (Poliseno; Salmena; Zhang, 2014).

Além disso, os lncRNAs estão envolvidos em diversos processos biológicos, como o desenvolvimento embrionário (Vance; Ponting, 2014), diferenciação celular

de células tronco (Ashtian, 2022), homeostase (Sánchez-Marín, 2022) e doenças não transmissíveis. Estudos recentes mostraram que os lncRNAs desempenham papéis críticos em uma ampla variedade de doenças humanas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes e neurodegenerativas. Esses resultados destacam a importância de continuar a investigar o papel dos lncRNAs na biologia celular e no desenvolvimento de novas terapias e biomarcadores para doenças humanas.

Abaixo temos uma tabela para representar alguns lncRNA e sua relação com papéis biológicos descritos:

Tabela 1 – Exemplificação de alguns lncRNA com as doenças relacionadas e o principal mecanismo de ação associado

lncRNA	Papel biológico	Mecanismo	Ref
NeST	Envolvido no controle da resposta imune a infecções microbianas	Ativa a transcrição em trans do interferon gamma (ifn)g	(Vance; Ponting, 2014)
KCNQ10T1	Promove a invasão celular e migração tumoral	Ativa a via JAK2/STAT3	(Hjazi, 2023)
PDCD4-AS1	Aumenta a interação entre os mRNA: PDCD4 e HuR favorecendo a progressão do cancer de Pulmão	Estabiliza o mRNA PDCD4 ao formar um RNA duplex	(Zhang; Liu; Chen, 2020)
XIST	inativação de um cromossomo X feminino	Mudança nas histonas	(Long, 2017)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.2. LINHA DO TEMPO DA TRANSCRIPTÔMICA

Ao longo dos séculos, a genética e a biologia molecular têm sido áreas de intensa investigação científica, permeadas por descobertas e avanços que revolucionaram nossa compreensão da vida. Desde as investigações pioneiras de Gregor Mendel no século XIX até as recentes descobertas do século XXI, as pesquisas nessas áreas têm fornecido insights fundamentais sobre a hereditariedade e a estrutura molecular dos organismos. Em 1869, Friedrich Miescher descobriu o núcleo, revelando a existência de uma substância que mais tarde seria conhecida como ácido desoxirribonucleico (Dahm, 2004). O entendimento da estrutura do DNA veio em 1953, quando Watson e Crick desvendaram a dupla hélice do DNA, estabelecendo as bases para a compreensão da hereditariedade.

Em 1944, Avery, McLeod e McCarty lançaram uma hipótese marcante ao demonstrar que o DNA era o material hereditário. Somente na década de 1960 foi consolidado com mais impacto a importância do DNA na transmissão de informações genéticas (Kung; Colognori; Lee, 2013). Nas décadas seguintes, surgiram avanços

significativos, como o código genético em 1958, que elucidou a relação entre a sequência de nucleotídeos do DNA e a sequência de aminoácidos nas proteínas. Em 1947 André Boivin publicou a primeira hipótese sobre a funcionalidade genética do RNA, afirmou que o RNA se adaptava ao gene. Desde então diversos pesquisadores fizeram avanços na descoberta dos RNA, porém nenhuma hipótese descrevia plenamente a função ou o local do RNA (Cobb, 2015) . Em 1955, a descoberta do RNA ribossomal lançou as bases para o estudo das moléculas de RNA(Jarroux; Morillon; Pinskay, 2017), sendo assim o primeiro RNA claramente identificado. Somente dois anos depois, em 1960, conceito do RNA mensageiro foi concebido por Brenner, Jacob e Meselson (Kung; Colognori; Lee, 2013) . Desde então, o mundo sobre a biologia molecular está em franco desenvolvimento.

Em 1972, os cientistas Janet Mertz e Ronald Davis conseguiram clivar o DNA com uma enzima de restrição, possibilitando o corte do DNA em fragmentos específicos. A redução de um DNA genômico para alguns pares de bases permitiu um dinamismo no estudo do DNA e as codificações de cada região genômica separadamente, além de permitir a clonagem gênica. Pouco tempos após isso a técnica de sequenciamento de Sanger foi desenvolvida, aprimorada em 1977(Brownlee, 2018) , possibilitou a leitura e compreensão das sequências de DNA com precisão, avançando no estudo de compreensão sobre a genômica.

Em 1990, o Projeto Genoma Humano foi lançado com o objetivo ambicioso de sequenciar todo o genoma humano. O projeto foi concluído em 2003, alcançando 92% de conclusão. Ao longo do caminho, foram feitos progressos importantes, como o sequenciamento completo do cromossomo 22 em 1999 (Rinn; Chang, 2013) e o desenvolvimento da iniciativa SNP em 1998 (Jarroux; Morillon; Pinskay, 2017), que permitiu identificar variações genéticas entre indivíduos.

No início do século XXI, avanços tecnológicos revolucionaram a genômica. Em 2005, o sequenciamento de nova geração (NGS) foi lançado, permitindo sequenciar rapidamente genomas inteiros e elucidar a estrutura e função de diversas moléculas, incluindo lncRNAs. A descoberta do lncRNA H19 ocorreu em 1989. Inicialmente o H19 foi classificado como mRNA por possuir elementos estruturais semelhantes ao RNA mensageiros e ser precursor de micro RNA (Cai; Cullen, 2007). A complexidade e a diversidade dessas moléculas não codificantes instigou pesquisadores a explorarem

seu papel fundamental em diversos processos biológicos, contudo esse mesmo fator é um viés de complicação para identificação (Laurent; Wahlested; Kapranov, 2015).

Além disso, no início dos anos 1990, foi desenvolvida a tecnologia de MicroArray, também conhecida como Array. O Microarray de RNA possibilitou a análise simultânea de milhares de sequências de RNA em uma única experiência, tornando-se uma ferramenta poderosa para estudos de expressão gênica. Foi por dessa técnica que o H19 foi descoberto (Zhu; Huang, 2021).

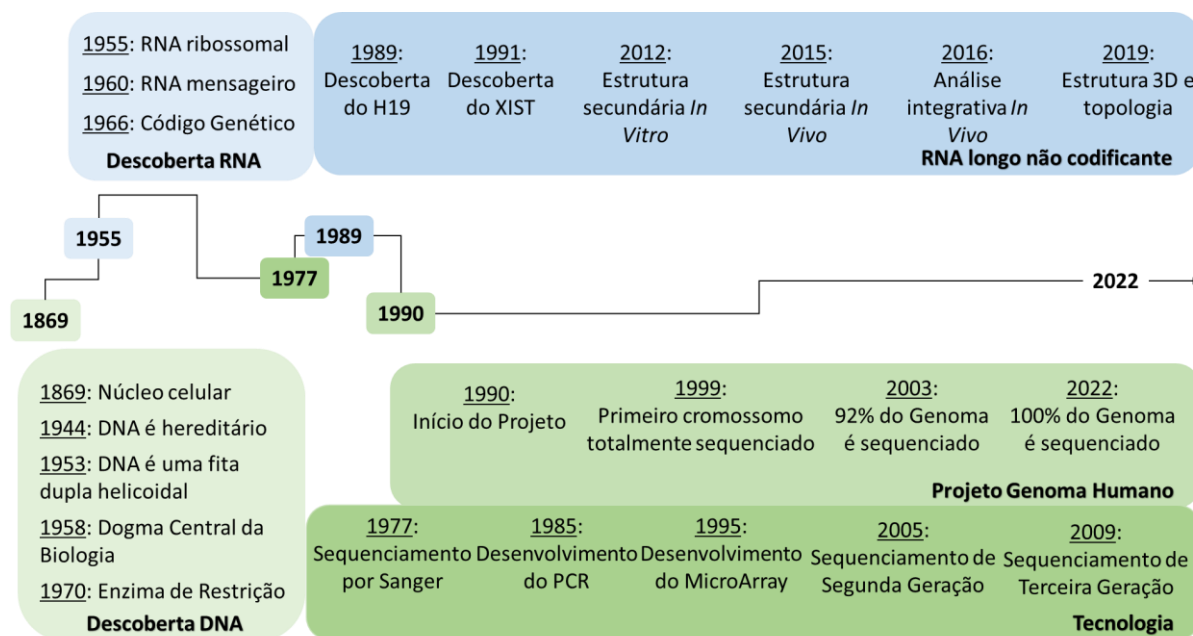
A partir de 2015, estudos *in vitro* e *in vivo* e análises integrativas (Fang, 2015) aprofundaram o entendimento do papel dos lncRNAs na regulação da expressão gênica e estrutura do genoma. Em 2019, a pesquisa avançou ainda mais, explorando a forma tridimensional e topológica dos lncRNAs, o Meg3 (Chillón; Marcia, 2020) (Figura1).

Com o desenvolvimento e publicação do Projeto Genoma Humano (PGH) que tinha como objetivo sequenciar todo o genoma, o pesquisador John Rinn interessado em procurar moléculas biologicamente ativas no cromossomo 22, o primeiro cromossomo a ser inteiramente publicado, se deparou diversos RNAs não codificantes. Rinn impressionado com a quantidade de células biologicamente ativas levantou a hipótese dos achados serem artefatos da tecnologia. Somente em 2007 John Rinn relatou a identificação de um novo RNA não codificante funcional de 2,2 quilobases chamado de HOTAIR (Morillon, 2018). Essa narrativa ilustra a importância do avanço tecnológico e do desenvolvimento teórico na progressiva compreensão da biologia molecular. Além disso, ressalta como a disseminação do conhecimento pode levar outras pessoas a obterem insights importantes.

Assim como o HOTAIR, diversos outros transcritos não identificados foram revisados e classificados como lncRNA, como no caso do Xist, considerado um dos primeiros descobertos em 1991 (Loda; Heard, 2019), e o pioneiro H19, descoberto em 1989, antes mesmo do início do Projeto Genoma Humano (PGH). Utilizando esses três exemplos de lncRNA, é notável que, apesar de a descoberta do lncRNA ter ocorrido há 34 anos até 2023, o entendimento da classe de "longos não codificantes" tem menos de 20 anos, tornando-se algo recente, permeado de incerteza. Esse contexto confere uma perspectiva controversa em virtude das complicações de

identificações e pouco conhecimento consolidado sobre o tema. Em contrapartida, há um enorme potencial desses transcritos nas aplicações clínicas.

Figura 1 – Resumo dos Marcos históricos que impactaram na descoberta e desenvolvimento do lncRNA



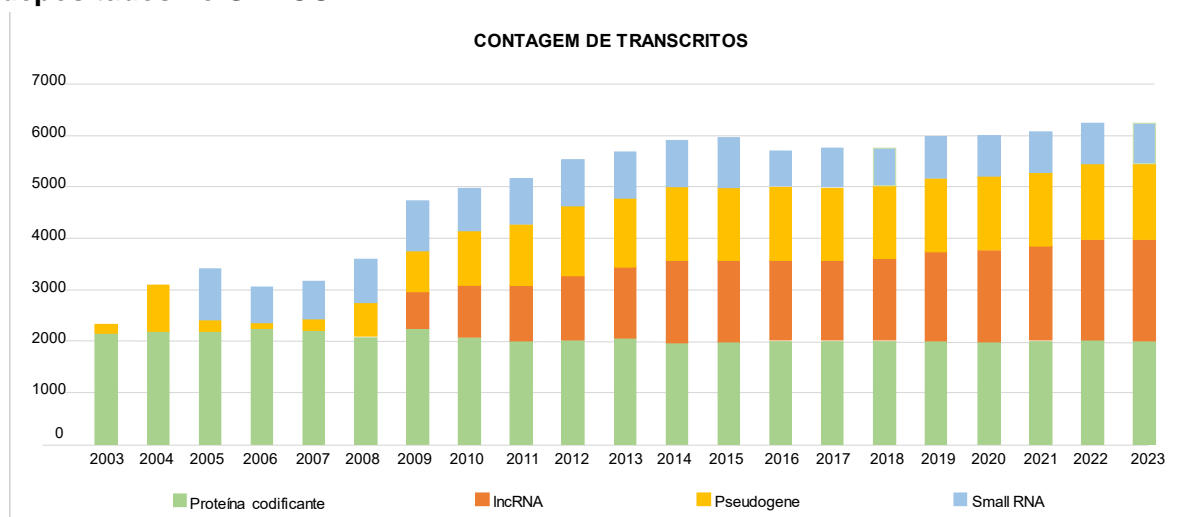
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

O avanço tecnológico desempenha um papel crucial nas descobertas científicas, especialmente no estudo dos lncRNAs (Correia; Rodrigues; Pelozin, 2021). A melhoria na sensibilidade das análises permite a detecção mais precisa e fiel dos níveis de expressão dessas moléculas. Por exemplo, há lncRNAs com apenas 0,0006 cópias por célula (Kung; Colognori; Lee, 2013), o que anteriormente justificava ser erroneamente interpretado como um artefato tecnológico ou ruído transcricional.

Existem diversas teorias sobre a origem dos genes de RNAs não codificantes, sendo uma delas a possibilidade de que os genes codificadores de proteínas (PCGs) tenham passado por mutações genômicas ou inserções de retrotransposons. Essas modificações nos PCGs levaram à formação dos pseudogenes, que são sequências genéticas que não resultam em produção de proteínas funcionais. Os pseudogenes, anteriormente considerados relíquias evolutivas, podem dar origem a diversos RNAs longos não codificantes intrônicos, como é o caso do PTEN11, por exemplo.

A finalização do Projeto Genoma Humano possibilitou uma análise comparativa entre transcritos. Um levantamento interessante nas anotações do GENCODE demonstrou um crescente número de anotações dos lncRNA, a partir de sua admissão na plataforma em 2009 e hoje o número de anotações sobre os lncRNA é extremamente similar ao número de PGC, como apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Representação gráfica da evolução de anotações sobre os lncRNA depositados no GENCODE.



Fonte: Adaptado de Roderic Guigó (2023).

Os RNAs longos não codificante podem ser estudados por MicroArray e métodos de sequenciamento. O NGS necessitou a criação de uma biblioteca de RNA-seq e acelerou as descobertas do RNA não codificantes (Byron; 2016). Para padronização e melhor entendimento essa revisão irá se basear como metodologia principal de identificação o uso de RNA-seq por NGS. Essa técnica emprega os princípios de hibridação para a detecção de sequências específicas de RNA em células ou tecidos, utilizando sequências complementares às de interesse.

4.3. DESAFIOS TECNOLÓGICOS NA IDENTIFICAÇÃO

4.3.1 Tecido – específico

Ao contrário do RNA mensageiro e outros tipos de RNA, o RNA longo não codificante (lncRNA) exibe uma alta especificidade tecidual e temporal (Mallory; Shkumatava, 2015), sendo desafiador sua extração e quantificação. Devido às baixas concentrações de cópias por célula e sua rápida degradação, os lncRNAs demandam equipamentos e profissionais especializados para sua manipulação (Hjazi, 2023). Além disso, a falta de conservação evolutiva entre as espécies dificulta o estudo *in*

vivo de lncRNAs em humanos, uma vez que pode não haver um homólogo correspondente de um lncRNA presente no cérebro de chimpanzés, por exemplo. No entanto, essa alta especificidade também oferece vantagens, tornando o lncRNA um alvo terapêutico ou biomarcador com alta especificidade

4.3.2 Sequenciamento por ngs

Os métodos tradicionais, como Array ou PCR, dependem do uso de sondas específicas ou arranjos de oligonucleotídeos predeterminados. Esses métodos requerem um conhecimento prévio detalhado da região alvo, o que significa que regiões com genes desconhecidos ou com variantes podem não ser reconhecidas por esses métodos. No entanto, o RNA-seq utiliza o Sequenciamento de Nova Geração (NGS), que permite a análise de fragmentos maiores de ácidos nucleicos e aumenta a probabilidade de descoberta de novos genes, transcritos ou novas variantes de genes previamente descritos (Kraus; 2016)

A construção do RNA-seq envolve várias etapas essenciais. Em primeiro lugar, é necessário realizar a extração e purificação do RNA. Essa etapa pode ser feita manualmente ou por meio de métodos automatizados, semelhante à extração de DNA (Gao; 2018) (Gupta; 2010)

A segunda etapa é o enriquecimento, que desempenha um papel crucial na seleção das melhores estratégias para o processo. Nessa etapa, é determinado qual classe de RNA é a mais relevante para o estudo. Inicialmente, a amostra de RNA extraída inclui todas as classes, como RNA ribossomal, RNA mensageiro, micro RNAs e outros. No entanto, no caso do lncRNA, é interessante reduzir a quantidade de RNA de outras classes que são bem definidas e identificáveis, como o RNA ribossomal. O enriquecimento é uma técnica de purificação específica ou amplificação seletiva. (Byron; 2016) Isso permite uma maior concentração do RNA alvo, facilitando a análise e aumentando a sensibilidade da detecção

A terceira etapa é a construção da biblioteca de RNA. Nessa etapa, o RNA é fragmentado para facilitar a ligação aos adaptadores de sequenciamento. São desenvolvidos adaptadores que têm a função de direcionar a orientação 5'-3' dos fragmentos e converter o RNA em cDNA, o qual é posteriormente amplificado por PCR.

Após a construção da biblioteca, a amostra é submetida ao sequenciamento, onde ocorre a leitura e registro das sequências de nucleotídeos presentes no RNA (Byron; 2016). Os dados obtidos são então analisados por meio da bioinformática, permitindo a identificação dos transcritos. Com isso é possível a comparação desses dados com o gene e a transcriptoma, o que permite insights sobre a regulação gênica e a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes a diversos processos biológicos e doenças.

A falta de características distintivas e a diversidade estrutural e funcional dos lncRNAs tornam desafiador o seu correto agrupamento e classificação. Além disso, a falta de um padrão de referência bem estabelecido para a anotação de lncRNAs dificulta ainda mais essa tarefa. Algumas das dificuldades específicas na categorização de lncRNAs incluem:

a) Baixa abundância: Muitos lncRNAs são expressos em níveis baixos de expressão, o que pode dificultar a detecção e a quantificação precisa desses transcritos (Mallory; Shkumatava, 2015) devido à alta sensibilidade que requer análise (Chillón; Marcia, 2020).

b) Variabilidade de comprimento: Os lncRNAs variam consideravelmente em termos de comprimento, por exemplo o Xist tem 17kb de comprimento enquanto o roX2 possui 1.1kb (Long, 2017), o que pode afetar a eficiência da amplificação e sequenciação durante o processo de construção da biblioteca, pois a etapa de fragmentação tem por objetivo tornar os fragmentos com tamanhos próximos, tornando o sequenciamento um procedimento caro (Fang; Fullwood, 2016).

c) Anotação inadequada: A falta de uma anotação apurada dos lncRNAs no genoma dificulta a associação correta dos lncRNAs identificados aos seus respectivos locais genômicos e à função biológica, principalmente por alguns lncRNAs sofrerem splicing e não serem conservados (Yan; Tan, 2022).

4.3.3 Topografia estrutural

Assim como outros tipos de RNA, o lncRNA pode adotar diversas estruturas secundárias e terciárias, e até mesmo circular (Xing; Chen, 2018). No entanto, devido a limitação de tamanhos atrelado aos primers de análise em comparação ao tamanho considerável de alguns lncRNA (Fang, 2015), juntamente com os desafios

mencionados anteriormente, como anotações inadequadas, a bioinformática enfrenta dificuldades para realizar simulações da topografia desses transcritos. Somente em 2019 foi desenvolvido o primeiro modelo 3D para o lncRNA (Chillón; Marcia, 2020), e mesmo após 5 anos, ainda é um desafio compreender as conformações e interações entre os lncRNA e proteínas associadas.

4.4. PRINCIPAIS CLASSES E SUBCLASSES

Os lncRNA podem ser classificados de diversas maneiras, levando em consideração diferentes aspectos (Quinn; Chan, 2015). As principais classificações incluem: comprimento, localização em relação a PCGs (protein coding genes), associação com outros elementos de DNA de função conhecida, via de biogênese ou estabilidade, sublocalização ou origem subcelular, função, associação com processos biológicos específicos, presença em repetições e conservação de sequência e estrutura (Laurent; Wahlested; Kapranov, 2015). É importante ressaltar que um mesmo lncRNA pode se encaixar em mais de uma dessas categorias. Por exemplo, o NEAT1, pela classificação funcional se enquadra em arquitetônico e, por localização, é considerado nuclear (Jarroux; Morillon; Pinsky, 2017). A classificação associada a relação com os PCGs e a função são as mais utilizadas. Devido à complexidade das classificações disponíveis, esta revisão se concentrará nessas classificações.

Para compreender melhor a classificação associada aos PCGs é necessária uma breve revisão do mecanismo de splicing alternativo. A regulação do splicing é um processo crucial para a formação de diferentes isoformas de RNA a partir de um mesmo gene. Nesse contexto, a regulação pode ocorrer tanto no local onde o gene é traduzido sendo a cis-regulação quanto em outros genes chamado de trans-regulação (Quinn; Chan, 2015).

A classificação associada aos PCGs dos transcritos não codificantes de proteínas engloba quatro subclasses principais, que podem ser ainda refinadas com base na categorização de cis ou trans de acordo com eventos de splicing alternativo (Zhang; Liu; Chen, 2020):

a) Sentido (Sense): Refere-se aos lncRNA cuja orientação de transcrição é concordante com a do gene codificador de proteínas (PCG) associado.

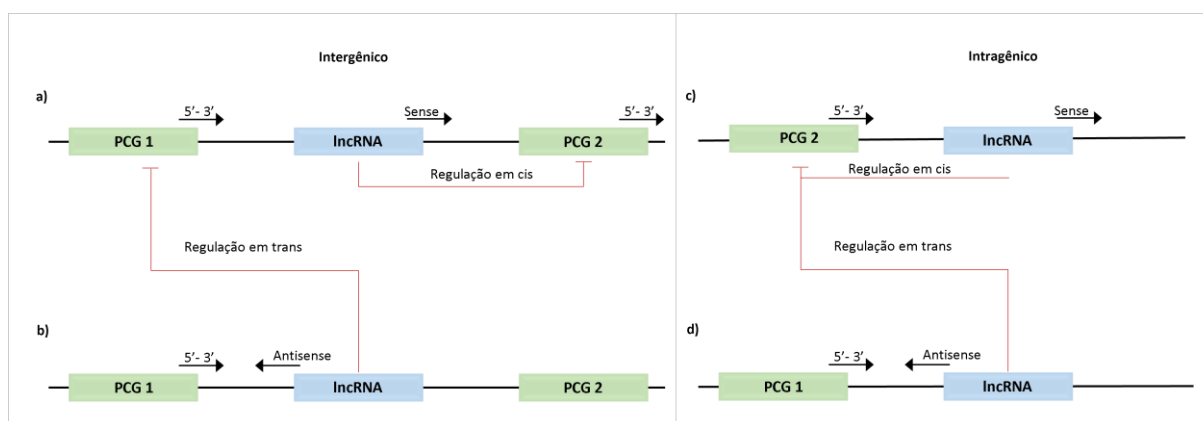
b) Antissenso (Antisense): Designa os lncRNA cuja transcrição ocorre na orientação oposta à do PCG associado, estabelecendo uma relação de complementaridade em termos de sequência.

c) Intergênico (Intergenic): Quando um lncRNA origina-se de uma região situada entre dois PCGs, ou seja, no espaço genômico que separa esses genes.

d) Intragênica (Intragenic): Refere-se à localização de lncRNA em uma região intrônica de um gene codificador de proteínas. Essa situação ocorre quando elementos regulatórios de um lncRNA influenciam o processo de splicing de genes adjacentes.

Essas categorias fornecem uma estrutura de classificação mais precisa para os lncRNA, considerando sua relação espacial e funcional com os genes codificadores de proteínas. A Figura 3 mostra uma representação gráfica de como é organizada essa classificação.

Figura 3 - A figura ilustra quatro classificações de lncRNA em relação aos genes codificadores de proteínas (PCGs): (a) Transcrito Intergênico em cis e sentido. (b) Transcrito Intergênico em trans e antissenso. (c) Transcrito Intragênico em cis e sentido, (d) Transcrito Intergênico em trans e antissenso.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os lncRNAs podem ser categorizados de acordo com suas funções biológicas. Alguns atuam como guias de RNAs, direcionando proteínas para locais específicos no genoma. Outros funcionam como scaffolds, fornecendo suporte para outras estruturas moleculares. Existem também os lncRNAs que atuam como competidores endógenos de outros RNAs. Além disso, há uma classe de lncRNAs que são precursores de outros RNAs, sendo os precursores de microRNAs (miRNAs) os mais conhecidos nessa categoria. Recentemente, alguns autores têm aceitado a categoria

decoy como classificação funcional (Guttman; Rinn, 2023). As funções dos lncRNAs serão abordadas em maior profundidade no nono tópico, uma vez que estão intimamente ligadas aos mecanismos de ação desses lncRNAs.

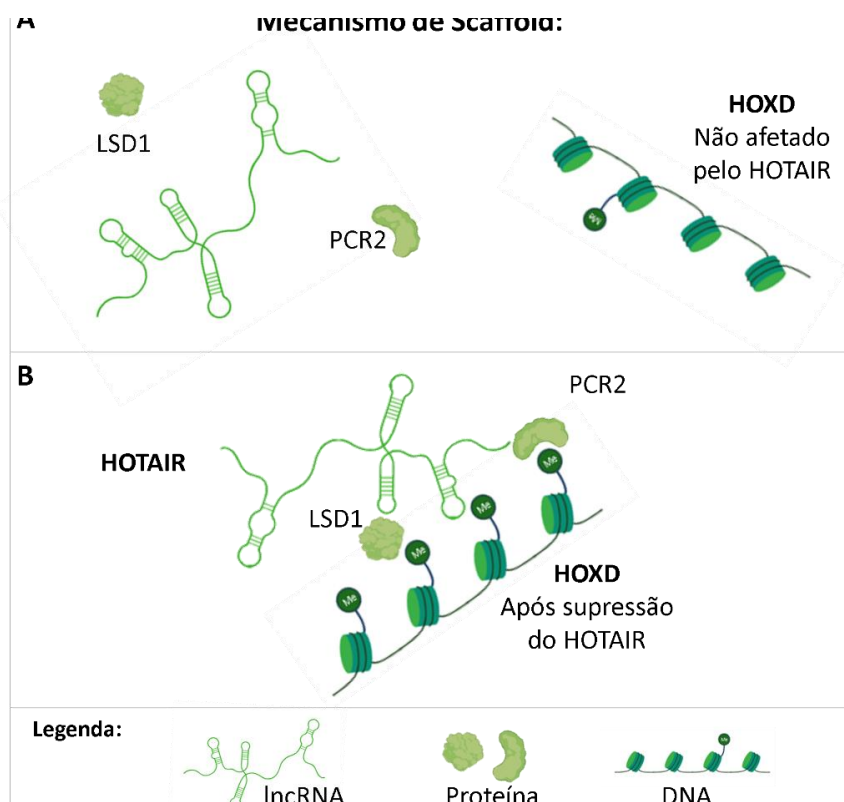
4.5. MECANISMOS DE AÇÃO DO lncRNA

Os RNA longo não codificantes possuem algumas classes funcionais, que podem ser usadas a fim de classificação, porém nesse tópico será explorado somente as principais formas de funcionas dos lncRNA para entender melhor como esses transcritos estão envolvidos nos processos moleculares.

4.5.1. Scaffold

Um RNA não codificante, devido à sua estrutura tridimensional complexa e dinâmica, pode desempenhar um papel de suporte para outras estruturas moleculares. Um Scaffold pode ligar duas ou mais proteínas entre si para amplificar um evento molecular (Morillon, 2018). Esse papel estrutural pode promover alterações na sinalização e localização de moléculas (Lim, 2018).

Figura 4 - Mecanismo de Scaffold. (A) HOXD antes do silenciamento induzido por histonas. (B) HOXD silenciado pelo lncHOTAIR guiar as proteínas PCR2 e LSD1 até o gene.



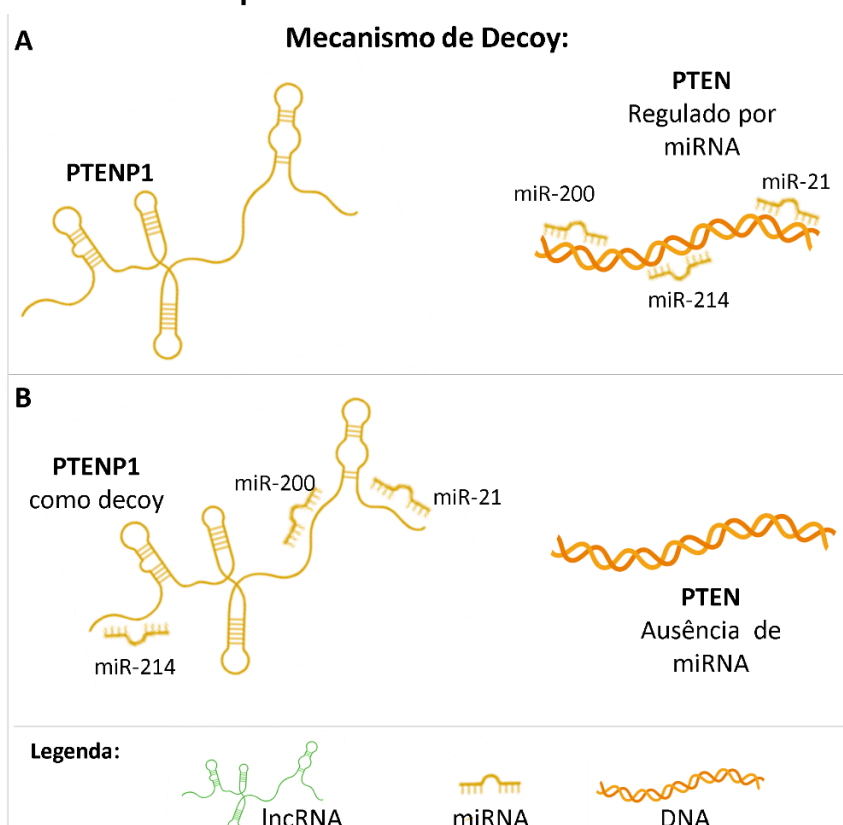
Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Os lncRNA estão envolvidos principalmente na epigenética e no controle da transcrição e na regulação da expressão gênica, podendo atuar em trans ou cis (Morillon, 2018). Um exemplo de lncRNA já citado é o HOTAIR, que tem o potencial de ligar ao complexo de Pcr2 e a LSD1 devido a sua estrutura. O lncRNA guia e dá suporte ao PCR2 e ao LSD1 para a realização da metilação das histonas no gene HOXD (Tsai, 2012). (Figura 4)

4.5.2 Decoy

Recentemente, foi descoberto que os lncRNA podem atuar como alvos miméticos para os microRNAs (miRNA). Ao compartilhar homologia com os sítios de ligação dos miRNA em alvos endógenos, os lncRNA sequestram e modulam a função dos miRNA, o que pode se tornar um alvo terapêutico promissor para a regulação de miRNA (Banks, 2012). Um exemplo recente desse fenômeno é o lncRNA PTENP1, que atrai os miRNA que normalmente regulam a pós transcrição do gene PTEN (Fang;

Figura 5 – Mecanismo de Decoy. (A) O gene PTEN está sendo regulado pela presença de miRNA. (B) o lncPTENP1 age como uma “esponja” que atrai os miRNA para si regulando positivamente a expressão do PTEN.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Fullwood, 2016). O gene PTEN é um supressor de tumores, mas durante o processo de proliferação tumoral, alguns miRNA, como os miR-21, miR-200 e miR-214, podem regular negativamente sua expressão (Poliseno,; Salmena; Zhang, 2014). O lncRNA PTENP1 atua como uma espécie de "esponja" para esses miRNA, impedindo que eles reprimam a expressão do gene PTEN e, portanto, contribuindo para a regulação da proliferação tumoral. (Figura 5)

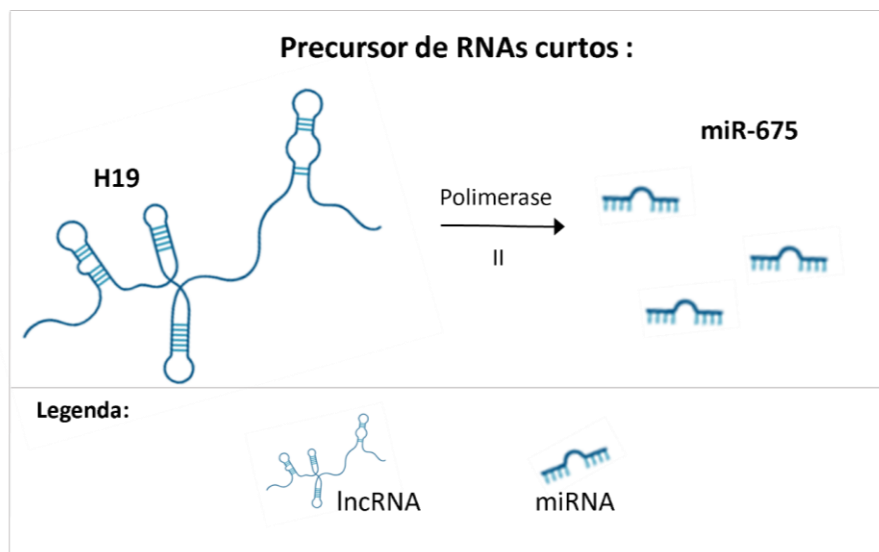
É importante ressaltar que alguns autores classificam esse mecanismo como um competidor endógeno de miRNA, pois os lncRNA também podem competir pelos sítios de ligação do miRNA devido à semelhança parcial de sequência com os transcritos de genes codificadores de proteínas (PCG). No entanto, os limites entre um decoy e um competidor endógeno ainda não estão completamente estabelecidos, alguns autores consideram o decoy como uma subclassificação dos competidores endógenos (Banks, 2012). Essa classificação pode variar dependendo do contexto e da função específica do lncRNA em questão.

4.5.3 Precursor de RNAs curtos

Muitos RNAs longos não codificantes (lncRNAs) possuem elementos que podem atuar como precursores de pequenos RNAs, como microRNAs (miRNAs) ou RNAs de interferência (RNAi), quando são transcritos pela RNA polimerase II. Um exemplo notável é o lncRNA H19, que inicialmente foi identificado como um RNA mensageiro (mRNA).

Para confirmar a capacidade do lncRNA H19 de atuar como precursor do miRNA miR-675, realizaram-se experimentos em que células de queratinócitos humanos foram clonadas e a expressão anormal do H19 nessas células foi analisada em camundongos. O objetivo era determinar se a presença anormal do H19 estimulava a síntese do miR-675. Os resultados desses experimentos *in vivo* confirmaram que o lncRNA H19 de fato atua como um precursor do miRNA miR-675 (Cai; Cullen, 2007). (Figura 6)

Figura 6 – Precursor de RNA curtos. A imagem demonstra o H19 sendo precursor do microRNAs mi-675.

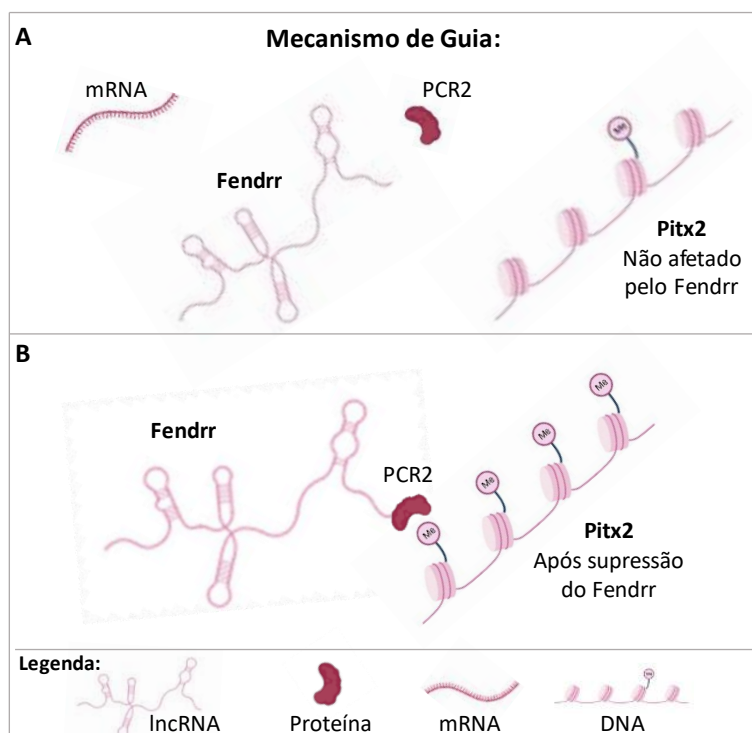


Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.5.4 Guia

Os RNAs guias desempenham um papel crucial na formação de ribonucleoproteínas (RNPs) devido à complementaridade de sequência que lhes permite recrutar específicas RNPs para seus alvos. Além da interação com RNPs, os lncRNA também têm a capacidade de se ligar a outros RNAs e ao DNA (Rinn; Chang, 2013). Por exemplo, o lncFendrr age como um recrutador do complexo PRC2 para o promotor do gene Pitx2, induzindo a metilação desse gene (Fang; Fullwood, 2016). No entanto, a compreensão detalhada desse mecanismo e de outros é desafiadora devido às complexas estruturas tridimensionais dos lncRNA, que ainda são difíceis de simular e compreender completamente (Vance; Ponting, 2014). (Figura 7)

Figura 7 – Mecanismo de Guia. (A) O gene Pitx2 sem a regulação genética causada pelo Fendrr. (B) O gene Pitx2 está sendo negativamente regulado pelo PCR2 que foi guiado até o gene pelo Fendrr.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.6. LncRNA E SUA RELAÇÃO COM A EXPRESSÃO GÊNICA

Os RNA longos não codificantes têm sido associados a doenças, especialmente o câncer. No contexto do câncer, algumas dessas moléculas têm chamado atenção por desempenharem papéis importantes na regulação da expressão gênica e na progressão tumoral. Os lncRNA podem interagir com complexos proteicos, como por exemplo com o complexo chamado PRC2 (Complexo Repressor Polycomb 2).

O PRC2 é um complexo proteico encontrado nas células eucarióticas que desempenha um papel crucial na regulação da expressão gênica e na manutenção da estrutura da cromatina. Sua principal função é adicionar grupos metil nas histonas. Especificamente, essa proteína adiciona grupos metil na posição lisina 27 da histona H3 (H3K27me3) (Fang; Fullwood, 2016).

Essa modificação epigenética leva à compactação da cromatina e à supressão da expressão gênica nos locais onde ocorre. Ou seja, o PRC2 atua reprimindo a atividade de genes específicos, garantindo que eles permaneçam silenciados ou

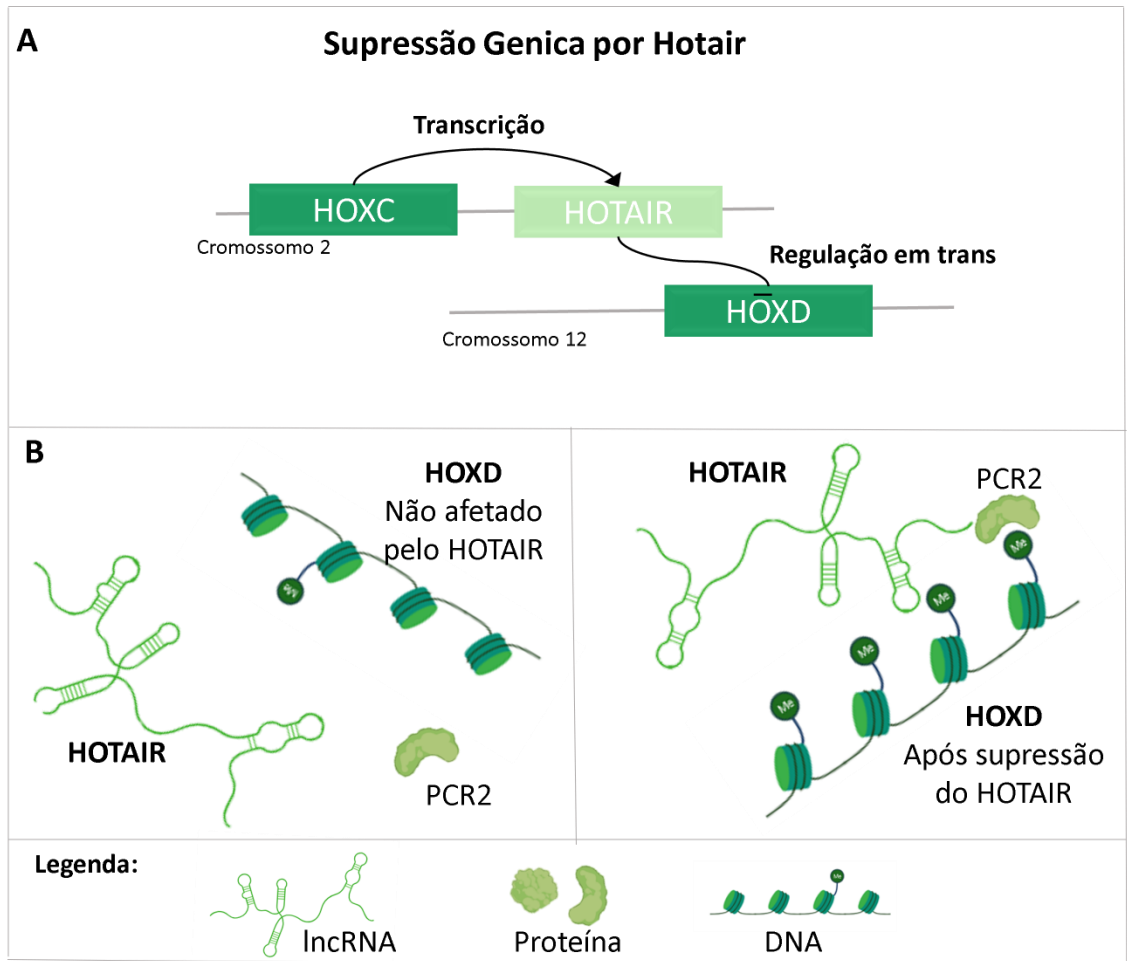
pouco ativos em determinadas situações celulares (Kaneko, 2010), essa via de supressão genética é amplamente utilizada por vários tumores, silenciando genes como o P53 que regula a apoptose o câncer promove sua proliferação e invasão de tecido adjacentes (MA, 2023).

Além disso, a metilação das histonas é uma modificação epigenética importante que regula a estrutura da cromatina e a expressão gênica. As histonas são proteínas que estão associadas ao DNA para formar a cromatina, e a metilação ocorre em resíduos específicos dessas proteínas, como lisina (K) e arginina (R). A metilação de lisinas específicas, como a lisina 4 da histona H3 (H3K4) está frequentemente associada à ativação da transcrição gênica, enquanto a metilação da lisina 9 e 27 da histona H3 (H3K9 e H3K27, respectivamente) está associada à repressão da expressão gênica (Han, 2023). O complexo PRC2 está relacionado ao poder de metilação das histonas guiado pela interação em cis ou trans com os lncRNA

Alguns lncRNAs, como o HOTAIR e Xist, estão envolvidos na regulação da expressão gênica por meio da metilação da histona H3K27 utilizando o complexo PRC2. No entanto, o HOTAIR atua em trans, ou seja, é transcrito a partir do gene HOXC no cromossomo 2, mas exerce sua função suprimindo o gene HOXD no cromossomo 12 ao interagir com o PRC2 (Wilusz; Sunwoo; Spector, 2009). (Figura 8) Essa regulação gênica mediada pelo HOTAIR está fortemente associada a diversos tipos de câncer e sua presença está relacionada a um pior prognóstico para o paciente (Gupta, 2010)

Figura 8 - Regulação gênica em trans induzida pelo HOTAIR. (A) Esquema de como é feita a regulação em trans entre o cromossomo 2 e 12 mediado pelo HOTAIR.

(B) Gene HOXD não regulado negativamente pelo lncRNA. (C) Como o HOTAIR induz o PCR2 a metilar o gene HOXD

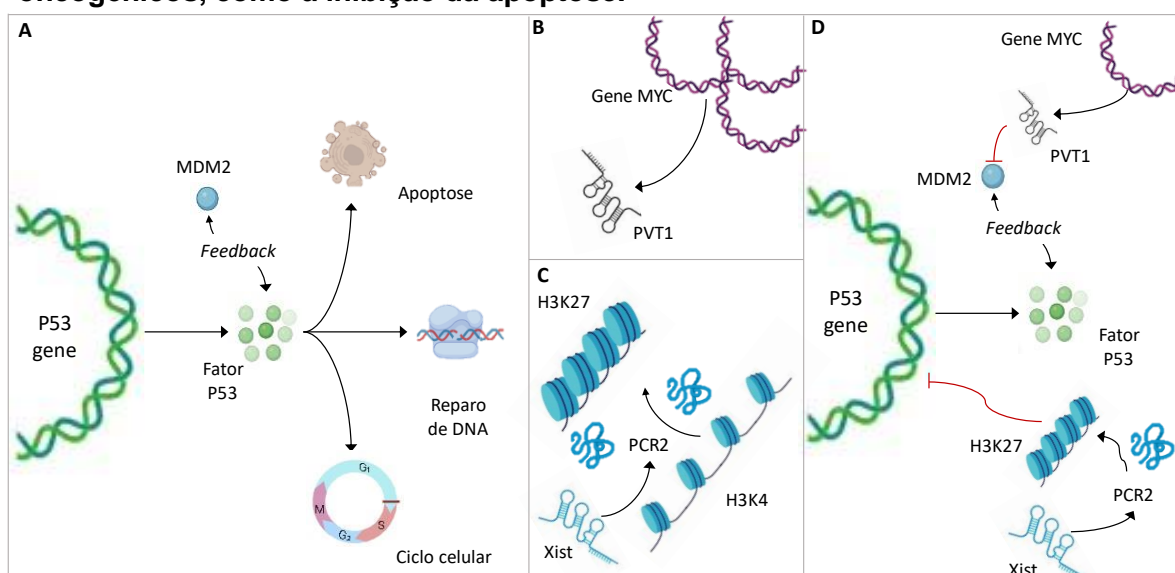


Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Por sua vez, o Xist atua no processo de Inativação do Cromossomo X (XCI), em que suprime a atividade do cromossomo X por meio de regulação cis, ou seja, o próprio gene produz o transcrito que o silencia (Loda; Heard, 2019).

Outra importante relação com a ontogenética é com o gene p53, conhecido como supressor de tumores. A p53 expressa uma proteína que desempenha um papel central na regulação do ciclo celular e na resposta ao estresse celular (Najafi, 2022). Quando as células estão danificadas ou sofrem mutações, a p53 é ativada e pode levar à parada do ciclo celular para permitir que o DNA seja reparado homologamente ou, em casos irreparáveis ou com potencial cancerígeno, pode induzir a apoptose, um processo de morte celular programada. (Figura 9)

Figura 9 - Esquema dos processos envolvendo os lncRNA e a regulação gênica. (A) representa graficamente as funções do fator p53 e sua influência com o MDM2 pelo mecanismo de feedback negativo. No (B) é demonstrado a relação de co aumento do lncRNA PVT1 com o proto-oncogene MYC. No (C) o lncRNA Xist influencia o complexo proteico PCR2 a realizar o processo de metilação nas histonas. No (D) é apresentado a relação entre todos esses processos, o lncRNA XIST pelo PCR2 estimula a supressão gênica do P53 por metilação, além disso a expressão do PVT1 aumentada pelo MYC causa uma interferência negativa na via MDM2-P53, favorecendo processo oncogênicos, como a inibição da apoptose.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

O gene MYC, um proto-oncogene, em células neoplásicas amplificadas está positivamente correlacionada com a expressão do lncRNA PVT1, e a amplificação de PVT1 está coaumentada em mais de 98% dos cânceres com aumento de cópia do MYC (Lin, 2019). O PVT1 é um indicador preditivo para o câncer colorretal e pode inibir a capacidade apoptótica das células neoplásicas³. Estudos sugerem que o PVT1 pode interferir na via MDM2-p53 (Ghafouri-Fard, 2020), inibindo a atividade do fator p53, apresentando potencial como novo alvo para diagnóstico e terapia do câncer colorretal.

Assim, a interação complexa entre lncRNAs, o complexo PRC2 com a metilação das histonas e relação com o fator P53 desempenha um papel essencial na regulação da expressão gênica e na progressão do câncer (Figura 9).

A compreensão desses mecanismos é de grande importância para o avanço da pesquisa em câncer, abrindo novas perspectivas para o diagnóstico e tratamento da doença, incluindo a possibilidade de manipular esses processos para induzir a apoptose em células tumorais.

4.7. A EVOLUÇÃO DO DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA MOLECULAR

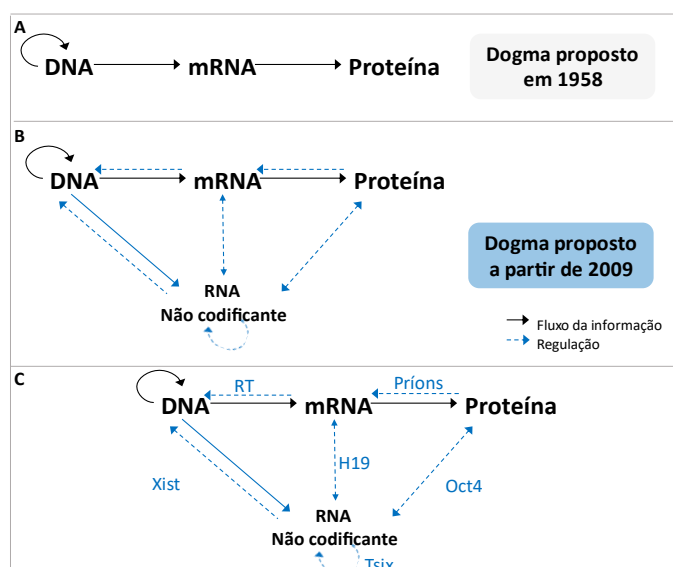
A descoberta dos genes é um marco relativamente recente no contexto científico, sendo que os ácidos nucleicos foram identificados por Friedrich Miescher em 1869 (Dahm, 2004). Porém, somente em 1958, ou seja, há menos de 100 anos, o dogma central da biologia molecular foi concebido por Francis Crick, e posteriormente desenvolvido por François Jacob e Jacques Monod, estabelecendo que o fluxo de informação genética ocorre unidirecionalmente: do DNA para o RNA e, em seguida, do RNA para a proteína, não permitindo que a informação flua da proteína para os ácidos nucleicos (Morange, 2009).

Entretanto, em 1955, três anos antes da formulação do dogma central, Georges Palade identificou o primeiro RNA não codificante (ncRNA) presente no citoplasma, especificamente no complexo ribonucleoproteico (RNP) altamente abundante: os ribossomos. Essa descoberta levantou a hipótese de que o fluxo de informações genéticas poderia eventualmente cessar no RNA, o que levou à criação da categoria de RNA não codificante, alguns dos quais foram inicialmente classificados como ruído de transcrição ou artefatos tecnológicos (Ponting; Haerty, 2022), considerados não influentes no dogma estabelecido.

Com o avanço tecnológico no sequenciamento genético, especialmente impulsionado pelo Projeto Genoma Humano (PGH), foram identificadas diversas subclasses de RNA, como os miRNAs e lncRNAs. Em 2009, John S. Mattick publicou o artigo intitulado "Deconstructing the Dogma" na revista "Natural Genetic Engineering and Natural Genome Editing", apresentando novas perspectivas e questionamentos em relação ao dogma central da biologia molecular (Mattick, 2009).

“Proponho uma história evolutiva alternativa em que a complexidade do desenvolvimento e cognição surgiu através da construção de sofisticadas redes regulatórias baseadas em RNA, que interagem com complexos efetores genéricos para controlar os padrões de expressão gênica e as trajetórias epigenéticas de diferenciação e desenvolvimento. Informações ambientais também podem ser transmitidas para esse sistema regulatório através de edição de RNA, especialmente no cérebro. Além disso, as observações de que as mudanças epigenéticas direcionadas pelo RNA podem ser herdadas levantam a intrigante questão: será que a evolução aprendeu a aprender?”

Figura 10 - Representação esquemática adaptada do autor Julien Jarroux (2017). (A) Esquema do Dogma Central da Biologia Molecular unidirecional desenvolvido por François Jacob e Jacques Monod. (B) Apresenta mudanças no Dogma Central da Biologia Celular em desenvolvimento desde 2009 após John S. Mattick destacar a importância dos RNA não codificante (ncRNA) na maquinaria genética. (C) Alguns exemplos de RNA longos não codificantes (lncRNA) e outras estruturas que desempenham papéis na regulação da expressão gênica e demonstram a complexidade do dogma genético que não é mais estritamente unidirecional.



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

Considerando a hipótese de Mattick, o novo dogma central deixaria de ser unidirecional e seria mais complexo, levando em conta os ncRNA (Figura 10).

Para fins de comprovação do funcionamento do novo dogma central, a Tabela 2 apresenta um resumo de lncRNA e suas funções na regulação gênica e proteica. Assim, a compreensão da biologia molecular está evoluindo rapidamente, abraçando a complexidade dos ncRNAs e reavaliando o dogma central. Isso tem implicações

significativas na forma como concebemos os mecanismos de regulação genética e abre novas perspectivas para o entendimento da evolução e adaptação biológica.

Tabela 217 – Exemplificação de alguns lncRNA e suas interações que fogem do Dogma Central da Biologia Molecular proposto em 1958

LncRNA	Doença relacionada	Mecanismo	Ref
ZNF180-2	Cancer renal	Splicing alternativo	(Ellinge; Rothenburg, 2015)
NRF	Infarto do miocárdio	Interfere na regulação de necrose em cardiomiócitos ao funcionar como decoy para o miR-873	(Wang, 2016)
IMFIncl	Gordura no fígado	Aumenta a expressão do CAV-1 ao funcionar como decoy para o miRNA miT-199a-5p	(MA, 2023)
MIAT	Diabetes	Inibe a via NF-κB ao modular o miR-182-5p/gpc5a	(Hoorzad, 2023)
SNHG	Parkison	Promove proliferação celular ao afetar a estabilidade do P53	(KRAUS, 2023)

Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.8 POTENCIAL DE BIOMARCADOR

Essa revisão evidencia que os lncRNAs, devido à sua expressão tecido-específica e mecanismos de ação na modulação genética, têm um potencial considerável como biomarcadores em diversas doenças. A disfunção desses transcritos não codificantes pode contribuir para uma ampla variedade de problemas de saúde em humanos, como nos casos abaixo:

4.8.1 Oncologia:

Numerosos estudos destacam o papel crítico dos lncRNAs na regulação de processos-chave em várias formas de câncer, incluindo proliferação celular, apoptose, invasão e metástase. Por exemplo, o lncRNA H19 demonstrou ser um regulador negativo do gene supressor de tumor CDH1 no câncer de pulmão em 28% dos casos⁶¹. Da mesma forma, o MALAT1 quando altamente expresso foi associado fibroblastos associados ao câncer por alterar a via AKT/mTOR(Chen, 2023)

4.8.2 Doenças cardiovasculares:

Os lncRNAs também desempenham um papel relevante em doenças cardiovasculares, como aterosclerose, hipertensão, insuficiência cardíaca e arritmias cardíacas. Exemplificando, o lncRNA ANRIL é um potencial biomarcador do prognóstico da doença como preditores de disfunção ventricular após infarto do miocárdio por estar envolvido em diversos processos relacionado a fisiologia do

coração, como por exemplo pode elevar a suscetibilidade de uma pressão arterial maior (Correia; Rodrigues; Pelozin, 2021).

4.8.3 Doenças autoimunes:

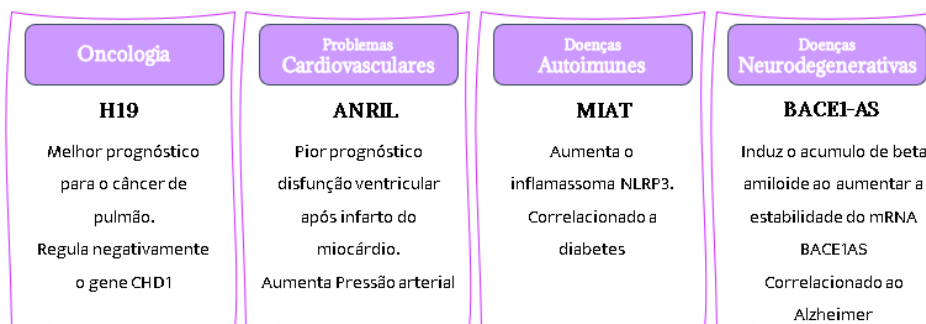
LncRNAs têm sido associados ao desenvolvimento de doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistêmico (LES) (MA, 2023) e osteoartrite (Ghafouri-Fard, 2020) e diabetes . O lncRNA MIAT aumenta indiretamente o inflamassoma NLRP3, um componente do sistema imunológico inato e regulador importante da inflamação crônica, o que aumenta a sinalização inflamatória do corpo e está relacionado a doenças cardíacas e diabetes em ratos (Chen, 2023) .

4.8.4 Doenças Neurodegenerativas:

O envolvimento de lncRNAs em doenças neurodegenerativas, como doença de Alzheimer e doença de Huntington, também foi documentado. Um exemplo é o lncRNA BACE1-AS, que regula a expressão do RNA mensageiro BACE1AS, envolvido na produção de placas beta amilóide, o transcrito não codificante aumenta a estabilidade do mRNA, induzindo assim o acúmulo de beta amilóide associadas à doença de Alzheimer (Zhu; Huang, 2021).

Esses são apenas alguns exemplos que ilustram como os lncRNAs podem desempenhar papéis cruciais em doenças humanas. A compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes e a identificação de lncRNAs específicos relacionados a essas doenças têm implicações significativas para o diagnóstico, prognóstico e terapia de uma ampla gama de condições de saúde. Na figura 11 é apresentado um resumo gráfico dos biomarcadores relatados

Figura 11 - Representação esquemática dos biomarcadores



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

4.9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Os estudos sobre lncRNAs têm crescido exponencialmente na última década, e isso tem gerado grande expectativa quanto a suas potenciais aplicações terapêuticas em doenças humanas. Devido ao papel regulatório que os lncRNAs exercem sobre a expressão gênica, eles podem representar alvos terapêuticos promissores em doenças não transmissíveis.

Uma das aplicações terapêuticas mais promissoras para os lncRNAs é no tratamento do câncer. Como mencionado anteriormente, vários lncRNAs têm sido identificados como reguladores-chave da proliferação celular, migração, invasão e metástase em diferentes tipos de câncer. Isso sugere que a modulação da expressão desses lncRNAs pode ter um efeito terapêutico significativo no tratamento do câncer.

Além disso, a capacidade dos lncRNAs de interagir com outras moléculas, como proteínas e RNAs, também pode ser explorada para o desenvolvimento de terapias baseadas em lncRNAs. Por exemplo, é possível desenvolver oligonucleotídeos complementares que se ligam especificamente a um lncRNA alvo, interferindo em sua função. Além disso, é possível usar vetores virais para entregar um lncRNA terapêutico a células específicas do organismo, como células tumorais (Correia; Rodrigues; Pelozin, 2021), similar a imunoterapia viral oncolítica.

Embora ainda existam muitos desafios a serem superados no desenvolvimento de terapias baseadas em lncRNAs, como a falta de ferramentas de bioinformática específicas para o estudo dessas moléculas, a necessidade de compreender melhor os mecanismos moleculares envolvidos em sua regulação e a dificuldade de estudos *in vivo* com correspondentes homólogos, os avanços na área são promissores e sugerem que o potencial terapêutico dos lncRNAs será cada vez mais explorado nos próximos anos.

Em resumo, as pesquisas sobre os lncRNAs têm revelado uma enorme complexidade e importância na regulação da expressão gênica e nos processos celulares, além de ter um papel relevante em diversas doenças humanas. As perspectivas futuras para o estudo dessas moléculas incluem a identificação de novas funções biológicas, o aprimoramento de técnicas de identificação e análise e o

desenvolvimento de terapias baseadas em lncRNAs para o tratamento de doenças humanas.

5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi abordado o papel fundamental dos lncRNAs na regulação da expressão gênica e sua relevância em uma variedade de doenças humanas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, doenças autoimunes e neurodegenerativas. Os lncRNAs representam uma classe complexa de moléculas com diversas subclasses e funções biológicas, ainda em constante investigação. Também foram discutidos os avanços tecnológicos que permitiram a identificação e caracterização desses lncRNAs, bem como as limitações dos métodos atuais. As perspectivas futuras para os lncRNAs são promissoras, com potenciais aplicações terapêuticas em várias doenças humanas, embora seja necessário um melhor entendimento dos mecanismos moleculares subjacentes para desenvolver terapias eficazes e seguras.

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, Bruce et al. **Biologia Molecular da Célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 1428 p
- ASHTIAN, Z. O et al. Overexpression of long intergenic noncoding RNAs in bladder cancer: A new insight to cancer diagnosis. **Pathology: Research and Practice**, Iran, v. 235, n. 1, p. 344-338, mai./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.153961>. Acesso em: 14 jul. 2023
- BALJON, K. J. et al. LncRNA PVT1: as a therapeutic target for breast cancer. **Pathology: Research and Practice**, Iraq, v. 248, n. 2023, p. 1-19, jul./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154675>. Acesso em: 29 ago. 2023
- BANKS, I. R. et al. RNA decoys: An emerging component of plant regulatory networks?. **Plant: Signaling & Behavior**, v. 7, n. 9, p. 1188-1193, jun./2012. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/psb.21299>. Acesso em: 4 jun. 2023.
- BROWNLEE, George G.. The Legacy of Fred Sanger: 100 Years on from 191. **Journal of Molecular Biology**, Reino Unido, v. 430, n. 17, p. 2661-2669, mai./2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2018.05.034>. Acesso em: 15 jul. 2023.
- BUNCH, Heeyoun; **Gene regulation of mammalian long non-coding RNA**. 293. ed. Korea: Mol Genet Genomics, 2018. p. 1-15.
- BYRON, Sara A.; KEUREN-JENSEN, K. R. V. Translating RNA sequencing into clinical diagnostics:: opportunities and challenges. **NATURE REVIEWS**, USA, v. 17, n. 1, p. 257-271, fev./2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.10>. Acesso em: 16 jan. 2023
- CAI, Xuezhong; CULLEN, Bryan R.. The imprinted H19 noncoding RNA is a primary microRNA precursor. **Cold Spring: RNA Society.**, EUA, v. 13, n. 1, p. 313-316, mar./2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1261%2Frna.351707>. Acesso em: 13 ago. 2023.
- CHEN, C. et al. Pharmacological roles of lncRNAs in diabetic retinopathy with a focus on oxidative stress and inflammation. **Biochemical Pharmacology**, China, v. 214, n. 2023, p. 1-13, jun./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115643>. Acesso em: 4 ago. 2023.
- CHEN, Geng; WANG, Ziyun; WANG, Dongqing. LncRNADisease: a database for long-non-coding RNA-associated diseases. **Nucleic Acids Research**, China, v. 41, n. 1, p. 983-986, nov./2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/41/D1/D983/1057855>. Acesso em: 8 out. 2022
- CHILLÓN, Isabel; MARCIA, Marco. The molecular structure of long non-coding RNAs: emerging patterns and functional implications. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, França, v. 55, n. 2020, p. 662-690, out./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10409238.2020.1828259>. Acesso em: 3 ago. 2023

CHU, C. et al. Systematic Discovery of Xist RNA Binding Proteins. **Cell**, EUA, v. 161, n. 1, p. 404-416, mar./2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.025>. Acesso em: 25 mar. 2023.

CLARK, Brian S.; BLACKSHAW, Seth; **Long Non Coding RNA Biolog**: Understanding the Role of lncRNAs in Nervous System Development. 1. ed. Singapura: Springer, 2017. p. 253-282.

COBB, Matthew. Who discovered messenger RNA?. **CellPress: Current Biology**, Reino Unido, v. 25, n. 1, p. 526-532, jun./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.05.032>. Acesso em: 10 jun. 2023.

CORREIA, C. C. M; RODRIGUES, Luis Felipe; PELOZIN, B. R. D. A. Long Non-Coding RNAs in Cardiovascular Diseases: Potential Function as Biomarkers and Therapeutic Targets of Exercise Training. **Non-Coding RNA**, São Paulo, v. 7, n. 4, p. 65-92, nov./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ncrna7040065>. Acesso em: 22 jul. 2023.

DAHM, Ralf. Friedrich Miescher and the discovery of DNA. **Developmental Biology**, Alemanha, v. 278, n. 1, p. 274-288, dez./2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2004.11.028>. Acesso em: 29 jul. 2023

DINGER., M. E. *et al.* Differentiating Protein-Coding and Noncoding RNA: Challenges and Ambiguities. **PLoS Computational Biology**, Australia, v. 4, n. 11, p. 1-5, nov./2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000176>. Acesso em: 10 dez. 2022

DIRUSSO, Christopher J.; DASHTIAHANGAR, Maryam; GILMORE, A. T. D. Scaffold proteins as dynamic integrators of biological processes. **Journal of Biological Chemistry**. EUA, v. 298, n. 12, p. 1-13, out./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102628>. Acesso em: 20 jul. 2023.

ELLINGER, Jörg; ALAM, Jahedul; ROTHENBURG, Jannik. The long non-coding RNA lnc-ZNF180-2 is a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma. **American journal of cancer research**, Alemanha, v. 5, n. 9, p. 2799-2807, ago./2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4633906/>. Acesso em: 8 dez. 2022

FANG, R. et al. Probing Xist RNA Structure in Cells Using Targeted Structure-Seq. **PLOS Genetics**, EUA, dez./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005668>. Acesso em: 27 jul. 2023

FANG, Yiwen; FULLWOOD, Melissa J.. Roles, Functions, and Mechanisms of Long Non-coding RNAs in Cancer. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, China, v. 14, n. 1, p. 42-54, fev./2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gpb.2015.09.006>. Acesso em: 25 jun. 2023.

FRANKISH, Adam; CARBONELL-SALA, Silvia; DIEKHANS, Mark. GENCODE: reference annotation for the human and mouse genomes in 2023. **Nucleic Acids Research: Database Issue**, Reino Unido, v. 51, n. 1, p. 942-949, nov./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1071>. Acesso em: 11 fev. 2023

GAO; AL, Li-ming Et. Long non-coding RNA H19 is responsible for the progression of lung adenocarcinoma by mediating methylation-dependent repression of CDH1 promoter. **Journal of cellular and molecular medicine**, China, v. 23, n. 9, p. 6411-6428, jul./2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14533>. Acesso em: 2 set. 2023.

GHAFOURI-FARD, S. et al. Regulatory role of microRNAs on PTEN signaling. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Iran, v. 133, n. 2021, p. 1-23, nov./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110986>. Acesso em: 27 ago. 2023

GUAN, Xiaoran; SUN, Yeying; ZHANG, Chunxiang. LncRNAs in blood cells: roles in cell development and potential pathogenesis in hematological malignancies. **Critical Reviews in Oncology: Hematology**, China, v. 180, out./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103849>. Acesso em: 17 jun. 2023.

GUAN, Xiaoran; SUN, Yeying; ZHANG, Chunxiang. LncRNAs in blood cells: roles in cell development and potential pathogenesis in hematological malignancies. **Critical Reviews in Oncology: Hematology**, China, v. 180, out./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103849>. Acesso em: 17 jun. 2023.

GUIGO, Roderic. Genome annotation: From human genetics to biodiversity genomics. **CellPress: Cell Genomics**, Barcelona, v. 3, n. 8, p. 1-12, ago./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.xgen.2023.100375>. Acesso em: 2 set. 2023

GUPTA, R. A. et al. Long noncoding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. **Nature**. EUA, v. 464, n. 15, p. 1071-1076, abr./2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature08975>. Acesso em: 8 jul. 2023.

GUTTMAN, Mitchell; RINN, John L.. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. **Nature**, EUA, v. 482, n. 7385, p. 339-346, fev./2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature10887>. Acesso em: 30 jun. 2023

HAMBA, Y. et al. Topologically associating domain underlies tissue specific expression of long intergenic noncoding RNAs. **CellPress: iScience**, Tokyo, v. 26, n. 5, p. 1-18, mai./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106640>. Acesso em: 3 ago. 2023.

HAN, Jing-Dong J. LncRNAs: the missing link to senescence nuclear architecture. **CellPress: Biochemical Sciences**, China, v. 48, n. 7, p. 618-629, mar./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2023.03.007>. Acesso em: 16 jun. 2023.

HJAZI, A. et al. The cross-talk between LncRNAs and JAK-STAT signaling pathway in cancer. **Pathology: Research and Practice**, Iraq, v. 248, n. 2023, p. 334-338, jun./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154657>. Acesso em: 17 ago. 2023

HOORZAD, P. et al. Understanding the lncRNA/miRNA-NFκB regulatory network in diabetes mellitus: From function to clinical translation. **Diabetes Research and Clinical Practice**, EUA, v. 202, jun./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2023.110804>. Acesso em: 26 ago. 2023.

JARROUX, Julien; MORILLON, Antonin; PINSKAY, And Marina. History, Discovery, and Classification of lncRNAs. **Advances in experimental medicine and biology**, France, v. 1008,

n. 1, p. 1-46, jun./2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1. Acesso em: 6 mai. 2023

KANEKO, S. et al. Phosphorylation of the PRC2 component Ezh2 is cell cycle-regulated and up-regulates its binding to ncRNA. **Genes & development**, EUA, v. 24, n. 1, p. 2615-2620, out./2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1101%2Fgad.1983810>. Acesso em: 28 jul. 2023

KRAUS, T. F. J. et al. Altered Long Noncoding RNA Expression Precedes the Course of Parkinson's Disease: a Preliminary Report. **Molecular neurobiology**, Nova York, v. 54, n. 4, p. 2869-2877, mar./2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9854-x>. Acesso em: 1 jul. 2023.

KUNG, J. T. Y; COLOGNORI, David; LEE, Jeannie T. Long noncoding RNAs: past, present, and future. **Genetics**, Boston, v. 193, n. 3, p. 651-669, mar./2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1534/genetics.112.146704>. Acesso em: 17 fev. 2023.

LAURENT, Georges St.; WAHLESTEDT, Claes; KAPRANOV, Philipp. The Landscape of long noncoding RNA classification. **Elsevier**, USA, v. 31, n. 5, p. 1-13, mar./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.03.007>. Acesso em: 25 ago. 2023.

LIM, Y. M. G. E. Scaffold Proteins: From Coordinating Signaling Pathways to Metabolic Regulation. **Endocrinology**, Canada, v. 159, n. 11, p. 3615-3630, set./2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2018-00705>. Acesso em: 21 abr. 2023.

LIN, T. et al. Emerging Roles of p53 Related lncRNAs in Cancer Progression: A Systematic Review. **International Journal of Biological Sciences**, China, v. 15, n. 6, p. 1287-1298, mai./2019. Disponível em: <https://doi.org/10.7150/ijbs.33218>. Acesso em: 5 ago. 2023.

LIU, Q et al. LncRNAs in tumor microenvironment: The potential target for cancer treatment with natural compounds and chemical drugs. **Biochemical Pharmacology**, China, v. 193, out./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114802>. Acesso em: 24 jun. 2023.

LODA, Agnese; HEARD, Edith. Xist RNA in action: Past, present, and future. **PLOS Genetics**, EUA, v. 15, n. 9, p. 1-17, set./2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008333>. Acesso em: 17 jun. 2023.

LONG, Y. et al. How do lncRNAs regulate transcription?. **SCIENCE ADVANCES: GENE EXPRESSION**, EUA, v. 3, n. 9, p. 1-14, set./2017. Disponível em: <https://www.science.org/>. Acesso em: 1 set. 2023.

LU, Zhipeng; CHANG, Howard Y. Decoding the RNA structurome. **Current Opinion in Structural Biology**, EUA, v. 36, n. 1, p. 142-148, fev./2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sbi.2016.01.007>. Acesso em: 14 mai. 2023.

MA, B. et al. Mechanisms of circRNA/lncRNA-miRNA interactions and applications in disease and drug research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, China, v. 162, n. 2023, p. 1-12, abr./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114672>. Acesso em: 6 ago. 2023.

MATTICK, John S.. Deconstructing the Dogma: A New View of the Evolution and Genetic Programming of Complex Organisms. **NATURAL GENETIC ENGINEERING AND NATURAL GENOME EDITING**, Australia, v. 1178, n. 1, p. 29-46, out./2009

Mercer, T., Dinger, M. & Mattick, J. Long non-coding RNAs: insights into functions. **Nat Rev Genet** 10, 155–159 (2009). <https://doi.org/10.1038/nrg2521>. Acesso em: 25 ago. 2023.

MORANGE, Michel. The Central Dogma of Molecular Biology: A Retrospective after Fifty Years. **Resonance**, França, v. 14, n. 1, p. 236-247, ago./2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12045-009-0024-6>. Acesso em: 3 jun. 2023.

MORILLON, Antonin. **Long Non-coding RNA: Definition and Families of Long Non-coding RNA**. 1. ed. [S.l.]: Elsevier, 2018. p. 25-53.

MORILLON, Antonin; **Long Non-coding RNA: The Dark Side of the Genome**. 1. ed. France: Elsevier , 2018. p. 1-190.

NAJAFI, S. et al. Long non-coding RNAs (lncRNAs): roles in tumorigenesis and potentials as biomarkers in cancer diagnosis . **Experimental Cell Research** , Iran, v. 418, n. 1, p. 1-18, jul./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2022.113294>. Acesso em: 29 ago. 2023.

NGAMPHIW, Chumpol; TONGSIMA, Sissades; MUTIRANGURA, Apiwat. Roles of Intragenic and Intergenic L1s in Mouse and Huma. **PLOS ONE**, France, v. 30, n. 8, p. 348-355, nov./2014. Disponível em: <https://doi:10.1371/ journal.pone.0113434>. Acesso em: 7 jul. 2023.

Park, E.G. et al. Genomic Analyses of Non-Coding RNAs Overlapping Transposable Elements and Its Implication to Human Diseases. **Int. J. Mol. Sci**, Korea, v.23, p. 1-15. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms23168950>. Acesso em: 29 ago. 2023.

POLISENO, Laura; SALMENA, Leonardo; ZHANG, Jiangwen. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. **Nature**, EUA, v. 465, n. 1, p. 1033-1038, jun./2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature09144>. Acesso em: 10 mar. 2023.

PONTING, Chris P.; HAERTY, Wilfried. Genome-Wide Analysis of Human Long Noncoding RNAs: A Provocative Review. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, Reino Unido, v. 31, n. 1, p. 153-172, abr./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-112921-123710>. Acesso em: 11 jul. 2023

QUINN, Jeffrey J.; CHAN, Howard Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function. **NATURE REVIEWS: GENETICS**, EUA, v. 17, n. 1, p. 47-62, dez./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrg.2015.10>. Acesso em: 20 mai. 2023.

RAVILLAH, D. et al. Discovery and Initial Characterization of Long Intergenic Noncoding RNAs Associated With Esophageal Adenocarcinoma. **Gastroenterology: Local**, v. 165, n. 2, p. 505-508, mai./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2023.04.037>. Acesso em: 2 set. 2023.

RINN, John L.; CHANG, Howard Y.. Genome regulation by long noncoding RNAs. **Annual review of biochemistry**, EUA, v. 81, n. 1, p. 145-166, dez./2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-051410-092902>. Acesso em: 28 jul. 2023.

SÁNCHEZ-MARÍN, D. et al. LncRNAs driving feedback loops to boost drug resistance: sinuous pathways in cancer. **Cancer Letters**., México, v. 543, p. 1-9, set./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.215763>. Acesso em: 27 ago. 2023.

Timeline of Genomic (1951–1976). **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**: EUA, v. 2, n. 3, p. 197-208, nov./2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1672-0229\(04\)02026-1](https://doi.org/10.1016/S1672-0229(04)02026-1). Acesso em: 28 jul. 2023.

TSAI, M. et al. Long Noncoding RNA as Modular Scaffold of Histone Modification Complexes. **Science**, EUA, v. 329, n. 1, p. 689-693, ago./2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1192002>. Acesso em: 19 jul. 2023.

ULITSKY, Igor; BARTEL, David P. lincRNAs: Genomics, Evolution, and Mechanisms. **Cell**, EUA, v. 154, n. 1, p. 26-46, jun./2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.020>. Acesso em: 29 jul. 2023.

VANCE, Keith W.; PONTING, Chris P.. Transcriptional regulatory functions of nuclear long noncoding RNAs. **Trends in Genetics**, v. 30, n. 8, p. 348-355, jun./2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2014.06.001>. Acesso em: 7 jul. 2023

WANG, K. et al. The long noncoding RNA NRF regulates programmed necrosis and myocardial injury during ischemia and reperfusion by targeting miR-873. **Cell Death and Differentiation**, China, v. 23, n. 1, p. 1394-1405, jun./2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/cdd.2016.28>. Acesso em: 19 jul. 2023

WANG, Y. et al. Unravelling the complexity of lncRNAs in autophagy to improve potential cancer therapy. **Biochimica et Biophysica Acta: Reviews on Cancer**, China, v. 1898, n. 5, p. 1-23, jul./2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2023.188932>. Acesso em: 2 set. 2023.

WILUSZ, Jeremy E.; SUNWOO, Hongjae; SPECTOR, David L.. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. **GENES & DEVELOPMENT**, New York, v. 23, n. 1, p. 1494-1504, set./2009

XING, Yu-Hang; CHEN, Ling-Ling. Processing and roles of snoRNA-ended long noncoding RNAs. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, China, v. 53, n. 6, p. 596-606, set./2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10409238.2018.1508411>. Acesso em: 27 mai. 2023

YAN, Jing; WANG, Ruobing; TAN, Jianjun. Recent advances in predicting lncRNA: disease associations based on computational methods. **Drug Discovery Today**, v. 28, n. 2, nov./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103432>. Acesso em: 27 ago. 2023.

YANG, J. et al. LncRNAs in tumor metabolic reprogramming and immune microenvironment remodeling. **Cancer Letters**, China, v. 543, n. 1, jun./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2022.215798>. Acesso em: 15 jul. 2023.

ZHANG, Xiao-zhen; LIU, Hao; CHEN, Su-ren. Mechanisms of Long Non-Coding RNAs in Cancers and Their Dynamic Regulations. **Cancers**, China, v. 12, n. 1, p. 1245-1266, mai./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers12051245>. Acesso em: 12 jan. 2023.

ZHANG, Y. et al. The dysregulation of lncRNAs by epigenetic factors in human pathologies:. **Drug Discovery Today**, Local, v. 28, n. 9, p. 1-14, dez./2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103664>. Acesso em: 20 jul. 2023.

ZHENG, X. et al. A novel method to identify and characterize personalized functional driver lncRNAs in cancer samples. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, China, v. 21, n. 1, p. 2471-2481, nov./2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.03.041>. Acesso em: 30 jun. 2023.

ZHU, Liucun; HUANG, Pengfei; ZHU, Rui. Methods and Tools for Long Non-Coding RNA Detection and Their Application in Systems Medicine. **Systems Medicine.: Integrative Qualitative and Computational Approaches**, China, v. 1, n. 2021, p. 40-51, ago./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11314-5>. Acesso em: 19 mai. 2023.