

Revisión

Aspectos inmunogenéticos de la psoriasis con énfasis en micro-ARN



Verónica Ruiz Cañas^a, Margarita Velásquez Lopera^{b,*} y Luis F. Barrera Robledo^c

^a Sección de Dermatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia

^b Sección de Dermatología, Centro de Investigaciones Dermatológicas, CIDERM, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia

^c Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Medellín, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 26 de marzo de 2014

Aceptado el 29 de julio de 2014

On-line el 8 de octubre de 2014

Palabras clave:

Psoriasis

micro-ARN

mi-ARN

Inmunopatogenesis

Epigenética

Keywords:

Psoriasis

micro-RNA

mi-RNA

Immunopathogenesis

Epigenetics

R E S U M E N

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel, de origen autoinmune, en la que diferentes poblaciones de linfocitos T ayudadores (Th1 y Th17), así como los queratinocitos y las citocinas que producen estas poblaciones celulares han sido implicadas en la etiopatología de la enfermedad.

Los mecanismos de regulación epigenéticos son el puente de unión entre la exposición ambiental y los factores genéticos. Actualmente se sabe que los denominados micro-ARN (mi-ARN), ARN no codificantes de cadena simple, participan activamente en la regulación epigenética. Alteraciones en la expresión de miR-125b, miR-424, miR-21 y miR-203, entre otros, han sido implicados en diferentes aspectos de la enfermedad. Estudios globales de la expresión de mi-ARN, tanto por micromatrices como por secuenciamiento directo de ARN, han revelado importantes diferencias en la expresión de mi-ARN en piel de individuos normales y psoriáticos. Estos mi-ARN pueden ser considerados como posibles blancos terapéuticos o biomarcadores de enfermedad.

© 2014 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Immunogenetic aspects of psoriasis with emphasis on micro-RNA

A B S T R A C T

Psoriasis is a chronic inflammatory disease of the skin, of autoimmune origin, with different cells implicated in the aetiopathology, such as T helper lymphocytes (Th1 and Th17), keratinocytes, and cytokines produced by these cells. The epigenetic regulatory mechanisms are the junction between environmental exposure and genetic factors. It is known that microRNAs (miRNAs), single chain RNAs, are actively involved in epigenetic regulation. Alterations in the miR-125b, miR-424, miR-21 and miR-203 expression, and others, have been

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mmvelasquez@yahoo.com (M. Velásquez Lopera).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.inmuno.2014.07.002>

0213-9626/© 2014 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

involved in different aspects of the disease. Global studies of miRNA expression performed using microarrays and by direct RNA sequencing revealed important differences in miRNA expression in normal skin and psoriatic individuals. These miRNAs can be considered as potential therapeutic targets or biomarkers of disease.

© 2014 Sociedad Española de Inmunología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Generalidades de la psoriasis

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria autoinmune de la piel, de carácter crónico, con recaídas y remisiones. Su nombre deriva de la palabra griega «psora» que significa «picar»¹. Se caracteriza por una proliferación acelerada de queratinocitos, disminución de la apoptosis e infiltración por células inflamatorias, principalmente células dendríticas (DC) y linfocitos T CD4⁺². En la psoriasis, el tiempo de tránsito de los queratinocitos desde la capa de células basales hasta la capa córnea es aproximadamente 10 veces más rápido que el de la piel normal, lo cual se ha asociado con trastornos en la diferenciación epidérmica³.

La prevalencia de la psoriasis varía con el origen étnico y la geografía, oscilando entre 0 y 3%. Los hombres y mujeres se afectan por igual. Las primeras manifestaciones ocurren alrededor de la edad de 20 años. Sin embargo es importante enfatizar que la psoriasis se puede manifestar a cualquier edad. Según la edad de aparición se han descrito 2 tipos de psoriasis: tipo I antes de los 40 años, con mayor probabilidad de ser familiar, con un curso clínico más severo y, tipo II después de los 40 años que tiene menos relación con antecedentes familiares⁴. Aunque el principal compromiso es cutáneo, se considera una enfermedad sistémica puesto que se puede encontrar además compromiso de uñas y articulaciones, y se ha asociado a comorbilidades como obesidad, síndrome metabólico, enfermedad coronaria y depresión, entre otras⁵. Las placas psoriásicas se localizan con mayor frecuencia en la cara extensora de las extremidades, la región sacra y la cabeza. La lesión clásica de la psoriasis es una placa roja elevada, bien delimitada, con una superficie con escamas blancas. El tamaño de las lesiones puede variar desde pápulas puntiformes hasta placas que cubren grandes superficies. La psoriasis vulgar es la más frecuente y afecta aproximadamente al 85-90% de los pacientes. Tiene una alta morbilidad tanto por las lesiones como por las comorbilidades y los efectos secundarios de los tratamientos. Afecta significativamente la calidad de vida, impactando la esfera familiar, social y laboral de los pacientes⁶.

Varios cambios histológicos se pueden observar en las lesiones en desarrollo: acantosis con paraqueratosis que surge de la proliferación rápida de queratinocitos asociada con una disminución de la apoptosis, reducción o ausencia de la capa granular (*hipogranulosis*), marcada dilatación de los vasos sanguíneos en la dermis papilar que provoca eritema visible y un infiltrado inflamatorio denso compuesto de agrupamientos de células T CD4⁺ y DC en la dermis, y de células T CD8⁺ y neutrófilos en la epidermis⁷.

Inmunopatogénesis de la psoriasis

En la década de 1970 la psoriasis era reconocida como un trastorno hiperproliferativo, por lo que se postuló que la alteración en la proliferación y diferenciación epidérmica era la causa principal de las lesiones psoriásicas. Posteriormente en 1980 se describió la relación de esta enfermedad con los linfocitos Th1 productores de IFN- γ ⁸. En el último decenio, nuevas evidencias implican a los linfocitos Th17, los macrófagos y las DC en la inducción y el mantenimiento de la psoriasis. La aparición de psoriasis en receptores de trasplantes hematopoyéticos de donantes afectados y la efectividad de tratamientos inmunosupresores como la ciclosporina, llevó a proponer el papel central del sistema inmune en la generación de la enfermedad⁸. Sin embargo, todavía no se ha establecido si la primera anomalía en la psoriasis está en la piel o en el sistema inmune^{9,10}. Actualmente se acepta que la enfermedad resulta de una anomalía intrínseca en los queratinocitos epidérmicos y de la activación del sistema inmunológico tanto innato como adaptativo¹¹.

Se reconocen 3 fases en la enfermedad⁴:

1. *Fase de sensibilización*: Después de señales innatas recibidas a través de los receptores tipo Toll (*toll like receptor* [TLR]) o receptores para las proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* [HSP]), las DC maduran y migran a los órganos linfoides secundarios donde presentan el antígeno a las células T CD4⁺ vírgenes, las activan y determinan el fenotipo Th1 y Th17 efector y de memoria. En esta fase no hay lesiones visibles en piel⁴.
2. *Fase silente*: Tiene una duración variable y no hay lesiones visibles en piel. Las células T de memoria recirculan por el compartimento linfóide y los tejidos⁴.
3. *Fase efectora*: Esta fase comienza con la infiltración de la piel por varias células inmunes como macrófagos, DC, células T y neutrófilos, generándose mecanismos efectores de la inmunidad innata y adaptativa. En esta fase se presenta inflamación, angiogénesis y una respuesta hiperproliferativa de los queratinocitos⁴.

El inicio de la enfermedad es mediado a través de DC que presentan antígenos extraños o propios aún no identificados a los linfocitos T¹². Algunos estudios han indicado que la queratina 17 (K17) es altamente expresada en lesiones psoriásicas y algunos epítopes de K17 son homólogos de la secuencia de la proteína M de estreptococo¹³. En este sentido, se conoce que la infección estreptocócica precede a la psoriasis en más del 90% de pacientes con psoriasis tipo I¹⁴. Además, las infecciones o daños de la piel pueden promover la formación de

Tabla 1 – Principales citocinas y sus funciones en la etiopatogénesis de la psoriasis

Citocina	Función en la patogénesis de la psoriasis
IFN- γ	-Induce la producción de quimiocinas proinflamatorias en queratinocitos (CXCL9, 10 y 11), para atraer linfocitos Th1 dentro de las lesiones
TNF- α	-Inducción de la expresión de moléculas de adhesión y quimiocinas -Hiperplasia epidérmica y angiogénesis a través de la expresión de EGF y VEGF
IL-6	-Aumenta la sensibilidad a las IL-20, IL-22 e IL-23 -Media la activación de los linfocitos T -Estimula la proliferación de queratinocitos -Media la respuesta de fase aguda
IL-8	-Proporciona una señal quimiotáctica fuerte para los neutrófilos
IL-17	-Estimula a los queratinocitos a producir quimiocinas (CXCL1, 3, 5, 6 y 8) atrayentes de neutrófilos -Induce CCL20 que atrae más linfocitos Th17 y células dendríticas -Induce en los fibroblastos la producción de IL-6, que compromete los linfocitos T vírgenes en el linaje Th17, perpetuando la inflamación
IL-20	-Produce activación y proliferación de queratinocitos
IL-22	-Modula en queratinocitos genes de diferenciación terminal, siendo uno de los principales inductores de hiperplasia epidérmica -Induce respuestas proinflamatorias al estimular la producción de citocinas, quimiocinas y proteínas de fase aguda por varios tipos celulares

EGF: epidermal growth factor; VEGF: vascular endothelial growth factor.

Tabla original de los autores.

Fuente: Información tomada de Sabat et al.⁴, Nogales y Krueger¹², Sweeney y Tobin¹⁷ y Coimbra et al.²⁰.

lesiones en individuos susceptibles, y se ha demostrado que estos desencadenantes estimulan en los queratinocitos la producción de péptidos antimicrobianos como catelicidina (LL-37) formando complejos con fragmentos de ADN propio reconocidos por TLR-9 en las DC^{7,15}. Se considera entonces, que el ADN del hospedero se convierte en un estímulo proinflamatorio que rompe la tolerancia inmunológica, conduciendo a la psoriasis⁷.

La activación de la célula T virgen requiere de la producción de IL-12 por las DC, induciéndose una polarización hacia una respuesta tipo Th1, la cual también requiere de la presencia del IFN- γ . A su vez, los linfocitos Th1 (CD4⁺ y CD8⁺) producen IFN- γ , TNF- α e IL-2¹⁶. De otro lado, las citocinas IL-1 β , IL-6 e IL-23 inducen el desarrollo de los linfocitos Th17. Estas células producen principalmente IL-17, IL-21 e IL-22¹⁷. La IL-23 es producida por DC y macrófagos, y es necesaria para el crecimiento, la supervivencia y las funciones efectoras de las células Th17. Tanto la IL-23 como las células Th17 han sido encontradas de forma abundante en las lesiones psoriásicas^{6,7}. Además, se ha identificado en la epidermis psoriásica la presencia de células T CD8⁺ que producen IL-17 (Tc17)⁷. Ambos tipos de linfocitos T (CD4⁺ y CD8⁺) están presentes en la piel psoriásica: mientras los CD4⁺ infiltran principalmente la dermis, los CD8⁺ están preferencialmente en la epidermis¹⁴. Aunque ambas poblaciones de linfocitos están presentes, las células T CD4⁺ parecen jugar un papel crítico en la patogénesis de la psoriasis¹⁸.

Además de los linfocitos T, los macrófagos son predominantes en el infiltrado inflamatorio localizado en la dermis superficial cerca de la papila dérmica. Los macrófagos son una de las fuentes principales de TNF- α . También se pueden encontrar mastocitos que producen grandes cantidades de TNF- α , IFN- γ e IL-8, y pueden liberar mediadores almacenados en cuestión de minutos y crear rápidamente un entorno necesario en la respuesta innata para el reclutamiento de neutrófilos y linfocitos T¹⁴.

Además de la activación persistente de células inflamatorias, se ha reportado alteración en los mecanismos reguladores de la respuesta inmunológica. Aunque ciertos estudios han indicado que el número de células T reguladoras no está alterado en las lesiones psoriásicas, parece haber un defecto en su actividad supresora¹⁹; además, la IL-10, una importante citocina reguladora, está disminuida en la psoriasis¹⁸.

La [tabla 1](#) muestra las principales citocinas que se han implicado en la psoriasis y sus funciones^{4,12,17,20}.

Aspectos genéticos de la psoriasis

Se ha propuesto que la psoriasis es una enfermedad compleja de naturaleza poligénica. Estudios en gemelos monocigóticos han mostrado una concordancia con la enfermedad del 70-72%, mientras que la concordancia entre gemelos dicigóticos varía del 15 al 23%, indicando la importancia, tanto de la asociación genética como de aspectos ambientales de naturaleza desconocida¹.

La naturaleza autoinmune de la psoriasis se sugirió a partir de su asociación con el complejo *human leukocyte antigen* (HLA) durante los años 1970. Primero se reportó asociación con el HLA-B13. Posteriormente, fuertes asociaciones fueron identificadas con Cw6 y DR7 en las poblaciones finlandesa y alemana¹. Sin embargo, solo el 10% de las personas que expresan HLA-Cw6 desarrollan psoriasis, lo que indica un papel importante de los factores ambientales y genes adicionales⁵. Por otro lado, estudios de asociación utilizando barrido genómico (GWAS) han mostrado al menos 10 regiones cromosómicas con vinculación estadísticamente significativa denominadas regiones de susceptibilidad a psoriasis (PSORS1-PSORS10) ([tabla 2](#)). El mayor determinante genético es PSORS1, el cual está localizado en el cromosoma 6 e incluye la región del complejo mayor de histocompatibilidad y representa hasta el

Tabla 2 – Regiones de susceptibilidad a la psoriasis

Regiones de susceptibilidad	Ubicación	Gen identificado
PSORS1	6p21	HLA-Cw6, CCHCR1, CDSN
PSORS2	17q25	SLC9A3R1, NAT9, RAPTOR
PSORS3	4q34	Gen que codifica para una proteína que regula la producción de IFN tipo 1
PSORS4	1q21	Se relaciona con aparición temprana de la psoriasis Complejo de diferenciación epidérmica (<i>epidermal differentiation complex</i> [EDC])
PSORS5	3q21	SLC12A8
PSORS6	19p13	JUNB
PSORS9	4q31	Varios genes que codifican para proteínas inmunológicamente relevantes residen en esta región, incluyendo el gen de la IL-15

Tabla original de los autores.

Fuente: Información tomada de Gonzalez y Londoño⁵ y Valdimarsson⁵⁶.

35% de la heredabilidad de la enfermedad⁵. Los genes candidatos localizados en PSORS1 incluyen genes localizados dentro de la región HLA, dentro de la cual el candidato más fuerte es Cw0602, particularmente en el caso de la psoriasis tipo I. Las personas con HLA-Cw6 tienen un riesgo relativo 10 veces mayor de enfermedad. En esta misma región se encuentra el gen para la corneodesmosina, que codifica para una proteína de adhesión de los queratinocitos, la cual durante la maduración de la capa córnea se somete a una serie de divisiones requeridas para la descamación²¹. Además de lo anterior, se han reportado polimorfismos de nucleótido único (*single nucleotide polymorphism* [SNP]) asociados a la psoriasis en genes que codifican citocinas, receptores y moléculas de señalización como IL-23R, IL-23A, IL-12B, ZNF313 y PTPN22¹⁸.

Importancia de la regulación epigenética en la psoriasis

Los cambios cromosómicos que son heredables, pero que no envuelven alteraciones en la secuencia del ADN, son conocidos como modificaciones epigenéticas. El perfil epigenético es altamente dinámico y reversible, y varía entre las células en el mismo organismo y en la misma célula, entre varios estados, tales como la salud versus enfermedad, o en respuesta a

las perturbaciones ambientales. La evidencia ha demostrado que los desequilibrios epigenéticos son elementos causales en varias enfermedades importantes, incluyendo el cáncer y las enfermedades autoinmunes²².

Los mecanismos epigenéticos se consideran el puente entre los factores genéticos y ambientales en la patogénesis de la psoriasis²³. Los 3 principales mecanismos de modificaciones epigenéticas son: metilación del ADN, modificación postranscripcional de las histonas y regulación por pequeñas moléculas de ARN no codificantes (nc-ARN)²⁴ (tabla 3).

Los efectos de la metilación del ADN y las modificaciones de las histonas en psoriasis han sido objeto de excelentes revisiones²⁵⁻²⁷ y no serán abordados aquí. En esta revisión nos centraremos en los nc-ARN, específicamente en los mi-ARN y su papel en la psoriasis con compromiso cutáneo.

ARN reguladores

Uno de los avances más importantes para el entendimiento del control de la expresión génica fue el descubrimiento de moléculas de ARN que regulan la expresión de genes. A finales de 1990 los estudios realizados por Andrew Fire y Craig Mello demostraron que la expresión génica podía ser inhibida por la introducción de ARN de doble cadena con secuencias

Tabla 3 – Mecanismos epigenéticos

Mecanismo epigenético	Definición
Metilación del ADN	Transferencia de grupos metilos al carbono 5 de las bases citosinas (C) del ADN situadas previa y contiguamente a una guanina («islas CpG»). Con el efecto de la reducción de la expresión génica, por imposibilidad de la interacción ADN-proteínas
Modificación de las histonas	Hipermetilación: Silenciamiento de genes. Hipometilación: Sobre expresión de ciertas proteínas Las histonas que forman parte del nucleosoma sufren modificaciones postraduccionales como acetilación, fosforilación, metilación, glucosilación, ADP-ribosilación, etc. Estas modificaciones alteran las interacciones ADN-histonas, permitiendo o no el acceso de la maquinaria de transcripción al ADN
Regulación por ARN no codificante	Los micro-ARN son pequeños ARN endógenos, que impiden la expresión de un determinado gen, bloqueando la traducción o mediante la degradación

Tabla original de los autores.

Fuente: Información tomada de Stein²⁴.

complementarias al gen blanco, un mecanismo que fue denominado ARN de interferencia (ARNi)²⁸. Lin-4 fue el primer ARN de interferencia descubierto en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*²⁹. Desde su descubrimiento en el 2001, más de 1.400 ARNi han sido identificados en humanos³⁰. Se han descrito varias clases de moléculas pequeñas de ARN que desencadenan este proceso de silenciamiento por interferencia. Dentro de estas las más conocidas son los ARN pequeños de interferencia (si-ARN) y los mi-ARN²⁸.

Los si-ARN pueden ser endógenos o exógenos, pueden ser codificados en el genoma o ser introducidos exógenamente a través de infecciones virales o mediante transgénesis. Los si-ARN endógenos pueden ser generados a partir de 2 transcritos separados pero complementarios, por ejemplo, a partir de la transcripción bidireccional del mismo locus, los cuales son posteriormente procesados para formar si-ARN. Aunque sus funciones no se conocen completamente, se han asociado con protección contra infecciones virales²⁸.

Los mi-ARN, aunque presentan mucha similitud con los si-ARN, son producidos en parte por una vía de síntesis diferente y son transcritos a partir de genes celulares³¹. Los mi-ARN son un grupo de ARN pequeños de aproximadamente 20 a 22 nucleótidos (nt) no codificantes, y median la regulación post-transcripcional. Los genes que codifican los mi-ARN pueden ser encontrados dentro de los intrones de genes codificantes y no codificantes, dentro de los exones de genes no codificantes y regiones intergénicas³². Aproximadamente el 50% de todos los mi-ARN conocidos están localizados dentro de los intrones de genes que codifican para proteínas, indicando que un gran número de mi-ARN podrían estar regulados por el promotor de su gen hospedador³³. Se ha estimado que los mi-ARN regulan aproximadamente el 30% de los genes humanos. Un mi-ARN puede regular muchos diferentes ARNm (promedio 200) y un ARNm puede ser regulado por más de un mi-ARN²⁹. Muchos de los mi-ARN conocidos están localizados dentro o cerca de sitios cromosómicos frágiles, en regiones de pérdida de heterocigocidad, en regiones de amplificación génica o en puntos de rotura habitualmente asociados a tumores³⁴.

Los mi-ARN participan en casi todos los aspectos de la fisiología celular³⁵. La evidencia acumulada hasta la fecha indica que los mi-ARN participan en la diferenciación celular, apoptosis, defensa antiviral y son cruciales en el desarrollo y función de las células del sistema inmunológico; además, participan en procesos como la secreción de insulina y el metabolismo del colesterol²⁹. Dada la importancia de su función, su expresión anormal puede permitir la aparición de enfermedades neoplásicas, autoinmunes, cardiovasculares, musculoesqueléticas, pulmonares y del desarrollo³⁰. Esta expresión anormal se ha podido explicar por mutaciones, inactivación mediada por procesos epigenéticos y por amplificación génica. Además, mutaciones en la región 3' no traducida (3' UTR) de un ARNm puede generar un nuevo sitio de unión de mi-ARN o afectar la habilidad de unión del mi-ARN³⁶.

Generación de los mi-ARN

Los genes de mi-ARN son transcritos por la ARN polimerasa II, generan un transcrito primario de ARN que puede tener

varios kilobases de longitud con regiones de complementariedad parcial, y dan lugar a una estructura secundaria conocida como tallo asa u horquilla (*stem loop* o *hairpine*)²⁸, poliadenilada en su extremo 3' y con una 7-metilguanocina en su extremo 5'². Esta estructura se denomina un mi-ARN primario o pre-mi-ARN. Luego, el tallo asa es procesado por un complejo enzimático que comprende Drosha (una ribonucleasa tipo III) y su cofactor DGCR8, generando un mi-ARN precursor (pre-mi-ARN) de aproximadamente 60 nt. Un pre-mi-ARN típico contiene un asa imperfectamente apareada de aproximadamente 33 pares de bases (pb). Dos nucleótidos sobresalientes en el extremo 3' del pre-mi-ARN son reconocidos por exportina 5, que lo transporta desde el núcleo al citoplasma¹¹. En el citoplasma, Dicer (otra RNasa tipo III) asociada con su cofactor TRBP, digiere ambas cadenas del pre-mi-ARN, retirando su estructura asa y produciendo una corta molécula de doble cadena de aproximadamente 22 nt³². Este mi-ARN de doble cadena se asocia con un complejo proteínico llamado inductor de silenciamiento RISC (*RNA induced silencing complex*). En este complejo las 2 hebras son separadas. La denominada hebra guía permanece unida a RISC, mientras que la complementaria es degradada. Un importante componente de RISC es una proteína llamada argonauta 2 (AGO2)^{28,37}. Los mi-ARN interactúan con la familia de proteínas argonauta y las guían hacia blancos específicos localizados en la región 3' UTR de los mARN blancos, resultando en represión translacional y degradación del mARN¹⁰. El mi-ARN en su región 5' tiene una región de 2 a 7 nucleótidos, conocida como la región semilla (*seed*), la cual es muy importante para la interacción entre mi-ARN y ARNm¹¹. Se ha propuesto que el grado de complementariedad entre el ARNm diana y el mi-ARN determina el mecanismo por el cual la regulación de la expresión génica se lleva a cabo; si la complementariedad es muy alta, el ARNm es degradado. Alternativamente, si la complementariedad es insuficiente, la regulación es ejecutada a través de la traducción^{38,39}. El silenciamiento es mediado por miembros de la familia AGO, los cuales inducen deadenilación, degradación o inhibición transcripcional del ARNm^{40,41}. En humanos, la mayoría de los mi-ARN tienen complementariedad insuficiente, mientras que los si-ARN tienen una alta complementariedad²⁸ (fig. 1).

Los mi-ARN se han encontrado en diferentes tejidos, suero, orina, y plasma, entre otros. En la sangre son incorporados dentro de micropartículas y exosomas (vesículas de membrana de 50 a 90 nm), previniendo su degradación enzimática⁴².

La función de los mi-ARN en la piel

La piel representa el órgano más grande del cuerpo humano. Los mi-ARN juegan un papel fundamental en el desarrollo normal de la piel. Evidencias en el modelo experimental del ratón han mostrado que la deficiencia de Dicer resulta en alteraciones en el desarrollo de la epidermis^{28,43}. Actualmente, un creciente número de reportes han identificado a los mi-ARN como reguladores de la morfogénesis y homeostasis de la piel y sus apéndices³². Por ejemplo, miR-203 estimula la diferenciación de las células madre epidérmicas, al suprimir la producción de p63, una proteína que induce la estratificación epitelial durante la embriogénesis y mantiene el potencial

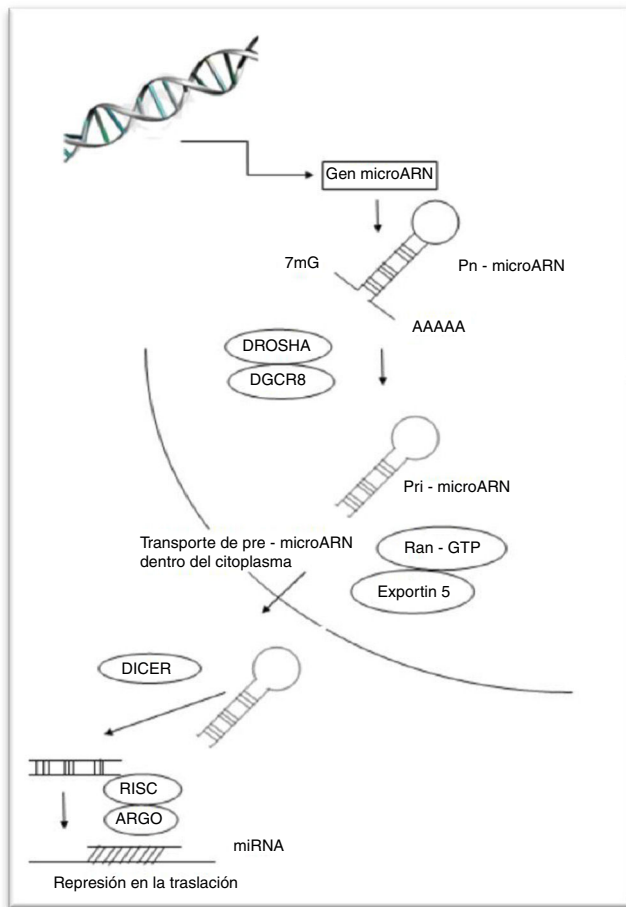


Figura 1 – Formación de micro-ARN.

El mi-ARN es transcrito por la ARN polimerasa II a partir del ADN, generando un transcrito primario (pri-mi-ARN) que es cortado por la ribonucleasa DROSHA/DGCR8 y que lo convierte en una molécula de menor tamaño llamada pre-mi-ARN. Esta es transportada por exportin 5 al citoplasma, y allí otra ribonucleasa, Dicer III, retira la estructura asa, produciendo una molécula de doble cadena, la cual se une a RISC y solo la hebra guía permanece unida. El mi-ARN interactúa con AGO2 un componente de RISC, guiándolo a blancos específicos, resultando en la represión traslacional o degradación del mRNA.

proliferativo de los queratinocitos maduros en la membrana basal de la epidermis^{2,44}. Otro mi-ARN, miR-31 es altamente expresado durante la fase catágeno y es necesario para un crecimiento óptimo del folículo y la formación del pelo. Además, miR-125b, altamente expresado en células madres, actúa como un represor de la diferenciación de las células tallo³².

Psoriasis y mi-ARN

En un estudio reciente utilizando la técnica de secuenciación de última generación ARNseq, se comparó la expresión de mi-ARN entre piel sana y piel proveniente de individuos con psoriasis. Este estudio reveló la expresión diferencial (2-42 veces) de 98 mi-ARN entre piel sana y piel psoriásica.

Entre los mi-ARN diferencialmente expresados se encontraron algunos que juegan un papel en la diferenciación epidérmica (miR-135b, miR-205, miR-203), inflamación (miR-142-3p y miR-223/223*) y angiogénesis (como miR-21, miR-31, miR-378, miR-100 y miR-31), entre otros, lo que indica que estos mi-ARN podrían estar asociados con el fenotipo inflamatorio e hiperproliferativo característico de las lesiones psoriásicas⁴⁵.

A continuación, se describirán las funciones de aquellos mi-ARN que potencialmente podrían jugar un papel predominante en la enfermedad psoriásica (tabla 4).

miR-203

Fue el primero en conocerse en la piel normal⁴⁶. Se expresa en altos niveles en piel y en bajos niveles en órganos que también contienen epitelio escamoso, que indica una función específica en la formación o función del epitelio escamoso. Dentro de la piel, miR-203 se expresa en queratinocitos pero no en otras células como melanocitos, fibroblastos o DC²⁸. No se expresa en la capa basal proliferativa pero es detectado en las capas superiores²⁹. Se cree que uno de sus blancos es la supresión de *suppressor of cytokine signaling 3* (SOCS-3), el cual es un regulador negativo de la vía de *signal transducer and activator of transcription 3* (STAT-3) que es activado por citocinas inflamatorias como IL-6 e IFN- γ . El aumento en la expresión de miR-203 en la psoriasis permite la disminución de los niveles de SOCS-3, resultando en la activación sostenida de la vía de STAT-3 por citocinas proinflamatorias¹⁰. STAT-3 juega un papel fundamental en muchas actividades biológicas tales como la proliferación celular, migración, inflamación, oncogénesis y regulación inmune². La activación constitutiva de esta vía ha sido reportada en ratones transgénicos con fenotipo similar a psoriasis, destacando su relevancia en esta enfermedad¹⁰. Además de la modulación de las respuestas inflamatorias, SOCS-3 también ha sido implicado en la regulación de la proliferación y diferenciación de los queratinocitos²⁹.

miR-146a

La expresión de miR-146a se encuentra anormalmente elevada en piel de pacientes con psoriasis¹¹. Aunque su expresión es ubicua, es altamente expresado en órganos como el timo y el bazo; en células T, DC y mastocitos en la piel, pero no en queratinocitos o fibroblastos, demostrándose baja expresión en piel sana^{28,46}. Está envuelto en la regulación de la respuesta inmune innata y la vía del TNF- α . Se ha demostrado que inhibe la expresión de *interleukin-1 receptor-associated kinase 1* (IRAK-1) y *TNF receptor-associated factor 6* (TRAF-6), receptores reguladores de la vía de señalización del TNF- α . Dada su alta expresión en células T reguladoras CD4⁺ CD25⁺, se ha indicado que este mi-ARN puede influir en la función de las células T reguladoras en psoriasis⁴⁶.

miR-125b

Es expresado en bajo niveles en células inflamatorias en comparación con células estructurales (fibroblastos, queratinocitos y melanocitos). Participa en la represión postranscripcional directa del TNF- α y su expresión se encuentra disminuida en piel psoriásica⁴⁵, en comparación con la piel

Tabla 4 – Micro-ARN y psoriasis

Micro-ARN	Perfil de expresión en psoriasis	Blanco	Función	Cromosoma (www.mirbase.com)
miR-203 ^{10,28,29}	↑ en queratinocitos de las capas superiores de la epidermis	↓SOCS3	Al disminuir SOCS3 no se produce inhibición en STAT3, el cual está implicado en funciones biológicas como: proliferación celular, inflamación, regulación, proliferación y diferenciación de queratinocitos	14q32.33
miR-146 ^{12,28,46}	↑ células T, células dendríticas y mastocitos de la piel	↓IRAK1 ↓TRAF6	Receptores reguladores de la vía de señalización del TNF-α	5q34
miR-125b ^{10,45,47}	Altos niveles en células T reguladoras CD4+CD25 ↓ en células inflamatorias	↓TNF-α	Represión postranscripcional directa del TNF-α. Al estar disminuido parece elevar el TNF-α	11q24.1 21q21.1
miR-21 ^{48,49}	↑ en células estructurales e inflamatorias de la piel	↓TPM1 ↓PDCD4	Antiapoptótico y antiproliferativo en varios tipos de células	17q23.1
miR-99a ^{3,51}	↓ en piel psoriásica	↑IGF1R	Participa en la diferenciación y apoptosis en muchos tipos celulares (queratinocitos)	21q21.1
miR-424 ⁵²	↓ en queratinocitos	↑MEK1	Hiperproliferación y diferenciación anormal de queratinocitos	Xq26.3
miR-221miR-222 ⁴⁹	↑ en piel psoriásica	↓TIMP3	Participan en la regulación del crecimiento celular y la apoptosis	Xp11.3
miR-31 ^{27,50}	↑ en queratinocitos	↓ STK 40	STK 40 en piel normal es un inhibidor negativo de la vía de señalización NF-κB	9p21.3

Tabla original de los autores. Se indica la referencia bibliográfica de los diferentes mi-ARN.

sana, lo que parece contribuir en la producción elevada de TNF-α durante la inflamación de la piel¹⁰. También han encontrado que miR-125b modula la proliferación y diferenciación de queratinocitos a través de la regulación del receptor del factor de crecimiento de fibroblasto (*fibroblast growth factor receptor* [FGFR2])⁴⁷.

miR-21

Es conocido como un oncogén y se ha demostrado en cánceres de órganos sólidos y en leucemia. Actúa como un agente antiapoptótico en varios tipos celulares. Meisgen et al. encontraron sobreexpresión de miR-21 en piel comprometida de pacientes con psoriasis en comparación con piel sana. El aumento de la expresión en células epidérmicas y en linfocitos T infiltrantes activados puede contribuir a la inflamación por suprimir la apoptosis de las células T⁴⁸. Además 2 de los blancos de miR-21 son *tumor suppressor protein tropomyosin 1* (TPM1) y *programmed cell death 4* (PDCD4), que se han encontrado subregulados en pacientes con psoriasis, lo que permitiría mayor proliferación de los queratinocitos⁴⁹.

miR-31

También se ha encontrado altamente expresado en queratinocitos de piel con psoriasis; contribuye a la inflamación en las lesiones de psoriasis, regulando la producción de citocinas inflamatorias y quimocinas, al bloquear la expresión del gen de la cinasa serina/treonina 40 (STK 40), el cual es un regulador negativo de la vía de señalización NF-κB. En un estudio se encontró que la interferencia de miR-31 disminuye la habilidad de los queratinocitos para activar las células endoteliales y la atracción de leucocitos^{27,50}.

miR-99a

Está envuelto en la diferenciación de queratinocitos a través de la regulación del receptor del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (*insulin-like growth factor 1 receptor* [IGF-1R]). En piel psoriásica miR-99a se encuentra disminuido³. El IGF-1R juega un papel importante en el crecimiento celular, diferenciación y apoptosis en muchos tipos celulares (queratinocitos). Los queratinocitos de pacientes con psoriasis son más susceptibles a

la proliferación por estimulación de IGF-1R comparados con queratinocitos normales. IGF-1R es expresado por queratinocitos basales y suprabasales y es más abundante en lesiones psoriásicas⁵¹.

miR-424

En un estudio realizado por Ichihara et al.⁵² se encontró disminución de miR-424, permitiendo la sobreexpresión de *mitogen-activated protein kinase 1* (MEK1) o ciclina E1 en queratinocitos. MEK1 es conocida en la activación de la cascada de las proteínas cinasa activadas por mitógenos (*mitogen-activated protein kinases* [MAPK]) y media la hiperproliferación y diferenciación anormal de queratinocitos humanos. La ciclina E1 participa en la proliferación celular y oncogénesis. Por inmunohistoquímica se encontró que la expresión de MEK1 o ciclina E1 estaba incrementada en psoriasis en comparación con piel normal⁵².

El *psoriasis susceptibility related rna gene induced by stress* (PRINS) un ARN no codificante (nc-RNA) sobreexpresado en piel comprometida y no comprometida de piel psoriásica e inducido por estrés fue recientemente descrito por Sonkoly et al.⁵³. El bloqueo de la expresión de PRINS resultó en la disminución de la expresión de G1P3, la cual es expresada predominantemente en las capas suprabasales de la epidermis y es sobreexpresada en la psoriasis. PRINS es expresado en mayor cantidad en la epidermis no comprometida de pacientes psoriásicos en comparación con lesiones psoriásicas y epidermis normal, que indica que PRINS podría ser un factor de susceptibilidad a psoriasis. Señales de estrés, tales como radiación UV o infecciones por *Herpes simplex*, resultaron en un incremento en los niveles de ARN de PRINS. Se ha propuesto que PRINS podría jugar un papel protector en células expuestas a estrés y que el incremento de su expresión en la epidermis puede contribuir a la susceptibilidad a la psoriasis. Previamente se conocía que G1P3 antagoniza a *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) mediador de apoptosis. Sus datos indican entonces que G1P3 inhibe la apoptosis espontánea de queratinocitos y por tanto su alta expresión en piel psoriásica podría contribuir al incremento de la velocidad de producción celular y el grosor de la epidermis⁵³.

miR-122

Está subregulado en psoriasis al igual que miR-99b³³.

miR-221/222

Se encuentran sobreexpresados en psoriasis, actúan en la reducción de los niveles de *tissue inhibitor of metalloproteinase-3* (TIMP3) y participan en la regulación del crecimiento celular y la apoptosis en psoriasis⁴⁹.

Otros tipos de mi-ARN, denominados no canónicos y ARN de interferencia pequeños endógenos (endo-si-ARN) también se han detectado en piel psoriásica. Los mi-ARN no canónicos son aquellos que no se procesan por la vía regular y se originan de loci genómicos que codifican para ARN nucleolares pequeños (sno-ARN), t-ARN e intrones, mientras que los endo-si-ARN se originan en elementos repetitivos,

incluyendo algunos transposones. La comparación entre piel sana y psoriásica identificó 15 mi-ARN no canónicos y endo-si-ARN diferencialmente expresados, sugiriendo que estos ARN también pueden jugar un papel patológico en la psoriasis⁵⁴.

El futuro

Los resultados actuales sugieren que mi-ARN pueden jugar un papel crítico en el control de la diferenciación celular en la piel normal, y alteraciones en su expresión han sido correlacionadas con cambios en piel psoriásica. Por consiguiente, algunos mi-ARN o patrones de expresión de mi-ARN podrían ser utilizados como biomarcadores o bioperfiles para enfermedad o tratamiento³⁶.

Los mi-ARN pueden servir como blancos terapéuticos en el futuro. Están envueltos en el desarrollo normal del sistema inmunológico y en la patogénesis de los desórdenes inflamatorios crónicos, tales como la psoriasis¹⁰. Las primeras investigaciones se han enfocado en degeneración macular, infección por virus sincitial respiratorio, terapia antiviral, enfermedades neurodegenerativas y cáncer, silenciando la sobreexpresión de genes en células tumorales o genes envueltos en la división celular²⁹. Para mi-ARN que están subexpresados, la reintroducción de mi-ARN maduro dentro de los tejidos afectados podría restaurar la regulación del gen blanco⁵⁵.

Un área clave de investigación en el uso de ARNi para aplicación clínica es el desarrollo de un método seguro de entrega, el cual envuelve el sistema de vectores virales (lentivirus, adenovirus) y no virales tales como nanopartículas y aptámeros. Estos últimos son *oligonucleótidos* de cadena sencilla capaces de reconocer de forma específica y con alta afinidad a varios tipos de moléculas diana. Otra estrategia para tumores sólidos es la entrega del si-ARN por electroporación⁵⁵.

El suministro local tiene la ventaja evidente de que las dosis de mi-ARN requeridas para un efecto son considerablemente más bajas. Además la administración tópica también permite una entrega más localizada, evitando cualquier efecto secundario no deseado potencialmente asociado con la administración sistémica. La entrega exitosa de si-ARN de forma localizada, de uso pertinente para dermatología, se ha descrito en ratones empleando electroporación en la piel *in vivo*³².

Conclusión

En la revisión se presentan los aspectos inmunopatogénicos de la psoriasis y se realiza un enfoque en el ARN de interferencia, como mecanismo epigenético, capaz de controlar la expresión génica, con un patrón específico de presentación en la psoriasis. La mejor comprensión de estos mecanismos podría permitir en un futuro desarrollar herramientas de tratamiento más eficaces y orientadas a puntos clave de la enfermedad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bhalerao J, Bowcock aM. The genetics of psoriasis: A complex disorder of the skin and immune system. *Hum Mol Genet.* 1998;7:1537-45.
2. Sand M, Gambichler T, Sand D, Skrygan M, Altmeyer P, Bechara FG. MicroRNAs and the skin: Tiny players in the body's largest organ. *J Dermatol Sci.* 2009;53:169-75.
3. Lerman G, Avivi C, Mardoukh C, Barzilai A, Tessone A, Gradus B, et al. MiRNA expression in psoriatic skin: Reciprocal regulation of hsa-miR-99a and IGF-1R. *PLoS One.* 2011;6:e20916.
4. Sabat R, Philipp S, Höflich C, Kreutzer S, Wallace E, Asadullah K, et al. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol.* 2007;16:779-98.5.
5. Gonzalez C, Londoño AC. Guías basadas en la evidencia para el manejo de la psoriasis en Colombia. 2012:25-40.
6. Zhou L, Ivanov II, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, et al. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nature Immunol.* 2007;8:967-74.
7. Nograles K, Davidovici B, Krueger J. New insights in the immunologic basis of psoriasis. *Semin Cutan Med.* 2010;29:3-9.
8. Sabat R, Sterry W, Philipp S, Wolk K. Three decades of psoriasis research: Where has it led us? *Clin Dermatol.* 2007;25:504-9.
9. Albanesi C, de Pità O, Girolomoni G. Resident skin cells in psoriasis: A special look at the pathogenetic functions of keratinocytes. *Clin Dermatol.* 2007;25:581-8.
10. Sonkoly E, Ståhle M. Pivarsci a MicroRNAs: Novel regulators in skin inflammation. *Clin Exp Dermatol.* 2008;33:312-5.
11. Zhao Y, Srivastava D. A developmental view of microRNA function. *Trends Biochem Sci.* 2007;32:189-97.
12. Nograles KE, Krueger JG. Anti-cytokine therapies for psoriasis. *Exp Cell Res.* 2011;317:1293-300.
13. Chang T, Sun L, Wang Y, Wang D, Li W, Li C, et al. Inhibition of keratin 17 expression with antisense and RNAi strategies: Exploring novel therapy for psoriasis. *Exp Dermatol.* 2011;20:555-60.
14. Ghoreschi K, Weigert C, Röcken M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007;25:574-80.
15. Nestle FO, Conrad C, Tun-Kyi A, Homey B, Gombert M, Boyman O, et al. Plasmacytoid dendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *J Exp Med.* 2005;202:135-43.
16. Lee MR, Cooper AJ. Immunopathogenesis of psoriasis. *Aus J Dermatol.* 2006;47:151-9.
17. Sweeney CM, Tobin A-M, Kirby B. Innate immunity in the pathogenesis of psoriasis. *Arch Dermatol Res.* 2011;303:691-705.
18. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. *New Engl J Med.* 2009;361:496-509.
19. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, Garaczi E, Shimada S, Stevens SR, et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4+CD25high regulatory T cells in psoriasis: Mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. *J Immunol.* 2005;174:164-73.
20. Coimbra S, Figueiredo A, Castro E, Rocha-Pereira P, Santos-Silva A. The roles of cells and cytokines in the pathogenesis of psoriasis. *Int J Dermatol.* 2012;51:389-95.
21. Chu C-C, di Meglio P, Nestle FO. Harnessing dendritic cells in inflammatory skin diseases. *Semin Immunol.* 2011;23:28-41.
22. Zhang P, Su Y, Lu Q. Epigenetics and psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;26:399-403.
23. Kaminsky ZA, Tang T, Wang SC, Ptak C, Oh GH, Wong AH, et al. DNA methylation profiles in monozygotic and dizygotic twins. *Nat Genet.* 2009;41:240-5.
24. Stein RA. Epigenetics and environmental exposures. *J Epidemiol Community Health.* 2012;66:8-13.
25. Zhang P, Zhao M, Liang G, Yin G, Huang D, Su F, et al. Whole-genome DNA methylation in skin lesions from patients with psoriasis vulgaris. *J Autoimmun.* 2013;41:17-24.
26. Hou R, Yin G, An P, Wang C, Liu R, Yang Y, et al. DNA methylation of dermal MSCs in psoriasis: Identification of epigenetically dysregulated genes. *J Dermatol Sci.* 2013;72:103-9.
27. Lu Q. The critical importance of epigenetics in autoimmunity. *J Autoimmun.* 2013:1-5.
28. Sun BK, Tsao H. Small RNAs in development and disease. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59:725-37, quiz 738-40.
29. Bostjancic E, Glavac D. Importance of microRNAs in skin morphogenesis and diseases. *Acta Derm Venereol.* 2008;17:95-102.
30. Tomankova T, Petrek M, Gallo J, Kriegova E. MicroRNAs: Emerging regulators of immune-mediated diseases. *Scand J Immunol.* 2011:129-41.
31. Lecellier C-H, Dunoyer P, Arar K, Lehmann-Che J, Eyquem S, Himber C, et al. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells. *Science.* 2005;308:557-60.
32. Schneider MR. MicroRNAs as novel players in skin development, homeostasis and disease. *Br J Dermatol.* 2012;166:22-8.33.
33. Aberdam D, Candi E, Knight Ra, Melino G. miRNAs «stemness» and skin. *Trends Biochem Sci.* 2008;33:583-91.
34. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:2999-3004.
35. Sonkoly E, Pivarsci A. Advances in microRNAs: Implications for immunity and inflammatory diseases. *J Cel Moll Med.* 2009;13:24-38.
36. Iborra M, Bernuzzi F, Invernizzi P, Danese S. MicroRNAs in autoimmunity and inflammatory bowel disease: Crucial regulators in immune response. *Autoimmun Rev.* 2012;11:305-14.
37. Bak RO, Mikkelsen JG. Regulation of cytokines by small RNAs during skin inflammation. *J Biomed Sci.* 2010;17:53.
38. Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2009;84:55-71.
39. Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell.* 2004;116:281-97.
40. Furer V, Greenberg JD, Attur M, Abramson SB, Pillinger MH. The role of microRNA in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Clin Immunol.* 2010;136:1-15.
41. Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:4034-9.
42. Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res.* 2011;717(1-2), 1-8.43.
43. Harfe BD, McManus MT, Mansfield JH, Hornstein E, Tabin CJ. The RNaseIII enzyme Dicer is required for morphogenesis but not patterning of the vertebrate limb. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:10898-903, 44.
44. Yi R, Poy MN, Stoffel M, Fuchs E. A skin microRNA promotes differentiation by repressing «stemness». *Nature.* 2008;452, 225-9.45.
45. Joyce CE, Zhou X, Xia J, Ryan C, Thrash B, Menter A, et al. Deep sequencing of small RNAs from human skin reveals

- major alterations in the psoriasis miRNAome. *Hum Mol Genet.* 2011;20, 4025-40.46.
46. Sonkoly E, Wei T, Janson PCJ, Sääf A, Lundeberg L, Tengvall-Linder M, et al. MicroRNAs: Novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis? *PloS one.* 2007;2:610.t.
 47. Xu N, Brodin P, Wei T, Meisgen F, Eidsmo L, Nagy N, et al. MiR-125b, a microRNA downregulated in psoriasis, modulates keratinocyte proliferation by targeting FGFR2. *J Invest Dermatol.* 2011;131:1521-9.
 48. Meisgen F, Xu N, Wei T, Janson PC, Obad S, Broom O, et al. MiR-21 is up-regulated in psoriasis and suppresses T cell apoptosis. *Exp Dermatol.* 2012;21:312-4.
 49. Zibert JR, Løvendorf MB, Litman T, Olsen J, Kaczkowski B, Skov L. MicroRNAs and potential target interactions in psoriasis. *J Dermatol Sci.* 2010;58:177-85.
 50. Xu N, Meisgen F, Butler LM, Han G, Wang XJ, Söderberg-Nauclér C, et al. MicroRNA-31 is overexpressed in psoriasis and modulates inflammatory cytokine and chemokine production in keratinocytes via targeting serine/threonine kinase 40. *J Immunol.* 2013;190:678-88.
 51. Lerman G, Volman E, Sidi Y, Avni D. Small-interfering RNA targeted at antiapoptotic mRNA increases keratinocyte sensitivity to apoptosis. *Br J Dermatol.* 2011;164: 947-56.
 52. Ichihara a, Jinnin M, Yamane K, Fujisawa A, Sakai K, Masuguchi S, et al. MicroRNA-mediated keratinocyte hyperproliferation in psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol.* 2011;165:1003-10.
 53. Szegedi K, Sonkoly E, Nagy N, Németh IB, Bata-Csörgo Z, Kemény L, et al. The anti-apoptotic protein G1P3 is overexpressed in psoriasis and regulated by the non-coding RNA, PRINS. *Exp Dermatol.* 2010;19:269-78.
 54. Xia J, Joyce CE, Bowcock AM, Zhang W. Noncanonical microRNAs and endogenous si-ARN in normal and psoriatic human skin. *Hum Mol Genet.* 2013;22:737-48.
 55. Golzio M, Mazzolini L, Ledoux A, Paganin A, Izard M, Hellaudais L, et al. In vivo gene silencing in solid tumors by targeted electrically mediated siRNA delivery. *Gene Ther.* 2007;14:752-9.
 56. Valdimarsson H. The genetic basis of psoriasis. *Clin Dermatol.* 2007;25:563-7.