

# Búsqueda bioinformática de potenciales blancos genéticos asociados al microRNA -934 en cáncer de mama triple negativo

## Bioinformatics search for potential genetic targets associated with microRNA -934 in triple negative breast cancer

Sánchez-Briones ME<sup>1</sup>., Salinas-Vera YM<sup>2</sup>., Cárdenas-González JF<sup>3</sup>., Silva-Cázares MB<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad De Estudios Profesionales Zona Huasteca. Universidad Autónoma De San Luis Potosí.

<sup>2</sup>Centro Nacional De Identificación Humana

<sup>3</sup>Centro De Investigación Y Extensión De La Zona Media “El Balandrán”. Universidad Autónoma De San Luis Potosí.

<sup>4</sup>Unidad Académica Multidisciplinaria Región Altiplano. Universidad Autónoma De San Luis Potosí.

\*Autor de correspondencia: Macrina Beatriz Silva Cázares

Correo: [macrina.silva@uaslp.mx](mailto:macrina.silva@uaslp.mx)

**RESUMEN** El cáncer de mama se origina cuando las células del tejido mamario comienzan a crecer en forma descontrolada promovida por la transformación de células incapaces de controlar su crecimiento. El cáncer de mama triple negativo se define como un “estado inmunohistoquímico con biología y conducta clínica heterogénea”, con ausencia de expresión de receptores de estrógeno, progesterona y crecimiento epidérmico humano (HER/B2). El objetivo es identificar de manera bioinformática potenciales blancos de genes asociados al mi terapéuticos de microRNAs en cáncer de mama triple negativo.

En la metodología se utilizaron las siguientes bases de datos: microRNA-Segse donde se descargaron muestras de cáncer de mama triple negativo públicamente disponibles en GEO, el control de calidad se realizó mediante la base de datos FASTQCv 0.11.9, para la cuantificación rápida de mapeo se consultó la base de datos miRBase y finalmente la identificación de microRNAs se realizó con ViennaRNA 1.8.4 usando como filtro para la expresión diferencial de  $p < 0.05$  para la obtención de datos de mayor relevancia. Se obtuvieron un total de 29 muestras de microRNA-Seq posteriormente llevó a cabo la expresión diferencial entre pares de condiciones, encontrándose 60 microRNAs de interés, los cuales fueron elegidos mediante los criterios de variación entre grupos y  $FDR < 0.05$  donde se identificaron 20 microRNAs asociados a cáncer de mama triple negativo y se enfocó el análisis en el top 5 de los microRNAs. Se identificaron 20 microRNAs asociados a TNBC de los cuales 5 (hsa-miR-122-5p, hsa-miR-130b-3p, hsa-miR-205-5p, hsa-miR-205-3p y hsa-miR-934.) Se identificó, de manera bioinformática, la predicción del miR 934 con 25 genes asociados a cáncer de mama triple negativo.

En un futuro cercano el tratamiento de las mujeres con cáncer de seno triple negativo podrá ser acompañado por terapias innovadoras como las de los microRNAs, con la finalidad de

que las mujeres con cáncer puedan tener una atención personalizada, mejorando así su calidad de vida.

**Palabras clave:** Análisis bioinformático. Cáncer de Mama Triple Negativo. microRNAs

### ABSTRACT

Breast cancer originates when breast tissue cells begin to grow in an uncontrolled manner promoted by the transformation of cells unable to control their growth. Triple-negative breast cancer is defined as an "immunohistochemical state with heterogeneous biology and clinical behavior", with absence of estrogen, progesterone and human epidermal growth receptor (HER/B2) expression. The objective is to bioinformatically identify potential gene targets associated with my therapeutic microRNAs in triple-negative breast cancer.

In the methodology the following databases were used: microRNA-Segse where samples of triple negative breast cancer publicly available in GEO were downloaded, quality control was performed using the FASTQCv 0.11.9 database, for rapid quantification of mapping the miRBase database was consulted and finally the identification of microRNAs was performed with ViennaRNA 1.8.4 using as a filter for differential expression of  $p < 0.05$  to obtain more relevant data. A total of 29 microRNA-Seq samples were obtained and then the differential expression between pairs of conditions was carried out, finding 60 microRNAs of interest, which were chosen using the criteria of variation between groups and  $FDR < 0.05$  where 20 microRNAs associated with triple negative breast cancer were identified and the analysis was focused on the top 5 of the miRNAs associated with triple negative breast cancer and the analysis was focused on the top 5 of the microRNAs associated with triple negative breast cancer.

In the near future the treatment of women with triple negative breast cancer may be accompanied by innovative therapies such as microRNAs, so that women with cancer can have personalized care, thus improving their quality of life.

**Key words:** Bioinformatic analysis. Triple Negative Breast Cancer. microRNAs.

## INTRODUCCIÓN

El cáncer es una de las causas principales de muerte en el mundo, reportándose en el 2020 una tasa de mortalidad de 10 millones de fallecimientos. Siendo el Cáncer de mama (CaMa) uno de los más frecuentes con 2,26 millones de casos anualmente (Hernandez et al., 2017).

El cáncer es una enfermedad promovida por la transformación de células normales en células incapaces de controlar su crecimiento, provocada por complejos cambios en el material genético llamados mutaciones. La forma de almacenar la información de las células es a través de las cadenas de ADN, sitio crítico de la génesis tumoral, así como blanco específico de las drogas oncológicas (Marc et al., 2022). Los avances recientes en el campo de la biología molecular y la secuenciación del genoma se han traducido en una nueva clasificación del cáncer de mama, que busca mayor precisión y se correlaciona mejor con el riesgo de recaída de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Establece cuatro subtipos de cáncer de mama: luminal A, luminal B, HER 2 positivo y triple negativo, siendo el subtipo luminal A el de mejor pronóstico, y el triple negativo, el de peor pronóstico (Tabla 1).

El pronóstico sombrío de la enfermedad triple receptor negativo se evidencia en publicaciones de varios grupos que han examinado las características genéticas y los subtipos moleculares basal contra luminal. Son diferentes los métodos de análisis que se han aplicado a los tumores basales (perfil genético de 70 genes y la firma genética de respuesta a las heridas), pero a pesar de la variación metodológica, han sido homogéneos los resultados de mal pronóstico (Ochoa et al., 2023).

**Tabla 1.-** RE: receptores de estrógenos, RP: receptores de progesterona, HER2: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (Feifei et al., 2019).

SUBTIPOS INTRÍNECOS DE CÁNCER DE MAMA				
Luminal A	Luminal B		Triple negativo	Her2 sobreexpresado.
RE positivo	RE positivo	RE positivo	RE negativo (<1%)	RE negativo
RP≥ 20%	RP < 20%	RP +/-	RP negativo (<1%)	RP negativo
Her2 negativo	Her2 negativo	Her2 positivo	Her2 negativo	Her 2 positivo
Ki67< 20%	Ki67> 20%			

En México, el cáncer de mama triple negativo representa del 15 al 23% de todos los cánceres. Sus principales características incluyen el hecho de afectar principalmente a pacientes menores de 50 años, de raza negra o hispana. Por lo general, corresponde a tumores de gran tamaño, poco diferenciados, con alto grado histológico e índice mitótico y afectación ganglionar; tiene mayor tasa de recurrencia y menor supervivencia libre de enfermedad y global; además, predominan las metástasis viscerales y de tejidos blandos a cerebro y pulmón (Shannon et al 2013).

Los microRNAs son pequeños RNAs que participan en diversos procesos de regulación génica, mediante ribointerferencia y juegan un papel clave en diversos procesos biológicos, tales como proliferación celular, diferenciación y apoptosis. En consecuencia, la expresión alterada de microRNAs contribuye a la enfermedad humana, incluyendo cáncer (Edelman et al., 2010)

Dependiendo del efecto que generen los microRNAs en el gen diana, se les ha asignado una clasificación y denominación:

- MicroRNAs oncogénicos (oncomirs)

Los "oncomirs" son microRNAs que promueven el desarrollo de tumores, regulando e inhibiendo genes supresores de tumor / o controlando los genes que intervienen en la diferenciación celular o apoptosis. Los oncomirs están significativamente sobre expresados en varios tumores debido a mecanismos epigenéticos o desregulación a nivel transcripcional (Alcaide et al 2021).

- MicroRNAs Supresores de tumor (Anti-oncomirs)

Con estos lineamientos ha sido claramente demostrado que algunos microRNAs, influyen en el desarrollo y progreso de cáncer (Ma et al., 2018). Por lo tanto, la identificación de la expresión diferencial de microRNAs, estableciendo sus funciones asociadas con cáncer y el desarrollo de formas para modular

cambios sistemáticos entre condiciones, en comparación con la variabilidad dentro de las condiciones.

sus actividades pueden producir poderosas estrategias terapéuticas contra el cáncer.

La bioinformática, en relación con la genética y la genómica, es una subdisciplina científica que implica el uso de ciencias informáticas para recopilar, almacenar y analizar y diseminar datos e información biológicos, como secuencias de ADN y aminoácidos o anotaciones sobre esas secuencias. Los científicos y el personal clínico usan bases de datos que organizan y catalogan esa información biológica para aumentar el entendimiento de la salud y la enfermedad y, en ciertos casos, se usan para proveer mejor atención médica (Fan et al., 2021). De acuerdo con la base de datos de secuencias miRBase más de 24.521 microRNAs precursores han sido registrados, de los cuales 30424 son productos maduros de microRNAs, de 206 especies. Se predice que el 30% de estos microRNAs, regulan genes codificantes de proteínas en el genoma humano (Kong et al., 2022).

La modelización de los fenómenos naturales no es una práctica que se inició en los últimos años. Sin embargo, con el avance de la tecnología, la posibilidad de modelizar los fenómenos naturales se ha hecho cada vez más común, debido a la velocidad a la que se pueden resolver los modelos con la ayuda de las ciencias informáticas.

**MATERIAL Y METODOS**

1.- Obtención de datos: Se descargaron un total de 29 muestras de microRNA-Seq de cáncer de mama triple negativo públicamente disponibles en GEO. 26 muestras pertenecen a diversas líneas celulares de cáncer de mama triple negativo (BCTN) (GSE108286).

2.- Identificación de microRNAs: La identificación de microRNAs se realizó con ViennaRNA 1.8.4, que predice y compara las estructuras secundarias de ARN. ViennaRNA utiliza el programa RNAfold, que se basa en que la mayoría de los ARN no codificantes se caracterizan por una estructura secundaria y terciaria específica que determina su función. Posteriormente se extrajo para cada microRNA del reporte de mapeo de mirDeep2 el conteo de la abundancia de los microRNAs identificados entre las muestras secuenciadas.

3.- Expresión diferencial: La expresión diferencial entre cada una de las condiciones se realizó utilizando métodos estadísticos como el  $|\log_2 \text{ fold change (FC)}| > 1.5$ , false discovery rate (FDR) adjusted  $p < 0.05$  como valores threshold. La paquetería utilizada fue EdgeR v3.38 (Empirical Analysis of Digital Gene Expression Data in R), mediante las funciones glmQLFit y glmQLFTest. Este análisis permite cuantificar e inferir estadísticamente los

4.- microRNAs putativamente asociados a TNBC: Posteriormente se realizaron predicciones de genes blanco mediante DIANA miRPath v3.0 o Targetscan release 8.0 identificando las funciones de los genes blanco asociados a diversos hallmarks.

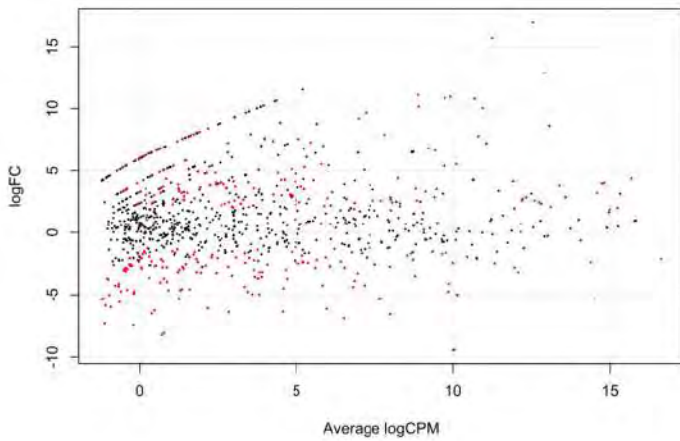
**RESULTADOS:**

Se obtuvieron un total de 29 muestras de microRNA-Seq de cáncer de mama triple negativo pertenecientes a diversas líneas celulares (n=26). Las muestras fueron mapeadas utilizando el genoma humano GRCh38.p13 de referencia.

**Tabla 2.-** Descripción de líneas celulares de cáncer de mama triple negativo.

TNBC subtype	Cell line	ID SRA
Unclassified	BT20	SRR6389795
Mesenchymal – like M	BT549	SRR6389796
Mesenchymal – like M	CAL120	SRR6389797
LAR	CAL148	SRR6389798
Mesenchymal – like M	CAL51	SRR6389799
Basal-like BL2	CAL851	SRR6389800
Basal-like IM	DU4475	SRR6389801
Basal-like BL1	HCC1143	SRR6389802
Basal-like IM	HCC1187	SRR6389803
Unclassified	HCC1395	SRR6389804
Basal-like BL1	HCC1599	SRR6389805
Basal-like BL2	HCC1806	SRR6389806
Basal-like BL2	HCC70	SRR6389809
Basal-like BL2	HDQP1	SRR6389810
Mesenchymal – like MSL	HS578T	SRR6389811
Mesenchymal – like MSL	MDAMB157	SRR6389812
Mesenchymal – like MSL	MDAMB231	SRR6389813
Mesenchymal – like MSL	MDAMB436	SRR6389814
LAR	MDAMB453	SRR6389815
Basal-like BL1	MDAMB468	SRR6389816
LAR	MFM223	SRR6389817
Mesenchymal – like MSL	SUM159	SRR6389818
LAR	SUM185	SRR6389819
LAR	SW527	SRR6389820

**Tabla 3.-** Identificación del top de microRNAs asociados a TNBC. Se identificaron 20 microRNAs asociados a TNBC (tabla 07), y se enfocó el análisis en El top 5 de los microRNAs: hsa-miR-122-5p, hsa-miR-130b-3p, hsa-miR-205- 5p, hsa-miR-205-3p y hsa-miR-934.



**Figura 1.-** Smear plot. Es una gráfica para microRNAs diferencialmente expresados (DE), que muestra la relación entre logCPM (logaritmo por cuentas por millón) y la diferencia de expresión o log2FoldChange, para visualizar la distribución de microRNAs en ambas condiciones. Los puntos en rojo representan microRNAs significativos con respecto a su expresión

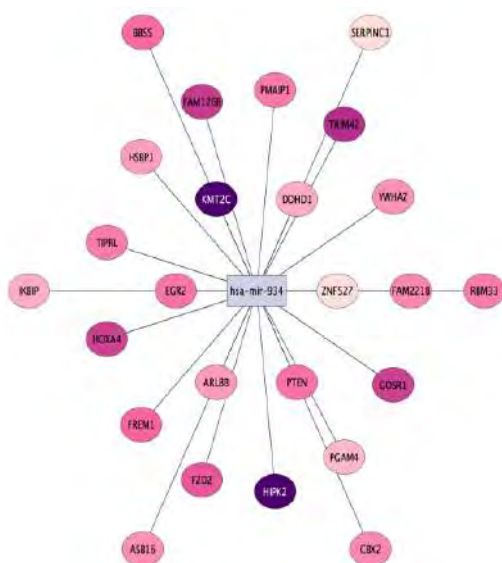
**DISCUSION**

El silenciamiento mediado por microRNAs se lleva a cabo mediante inhibición de la traducción o por degradación dependiente del grado de complementariedad entre el microRNA y la región 3'UTR del transcrito. Mediante los enfoques de la bioinformática, diversos programas como miRanda, Pictar, Targetscan, Tarbase entre otros, puede predecir miles de genes que son potencialmente regulados por microRNAs basados en la complementariedad de secuencias (Wang et al., 2021). En la misma línea ahora se está investigando en la identificación de los blancos de los microRNAs con el fin de identificar las redes sobre las cuales inciden los mismos y de este modo entender como el sistema biológico se está comportando frente a cada cambio, con el fin de poder determinar en qué medida cada microRNA puede estar regulando un solo blanco o simultáneamente, más de una diana y que esta, a su vez pueda estar generando toda una cascada de señales que desemboquen en un fenotipo tumoral (Zubair et al., 2021).

microRNAs_premicroRNAs	logFC	logCPM	Fold change	PValue	FDR
hsa-miR-122-5p_hsa-mir-122_77	-6.2441	0.4985	38.1541	0.0000	0.0000
hsa-miR-130b-3p_hsa-mir-130b_245	3.5386	9.4512	37.2946	0.0000	0.0000
hsa-miR-205-5p_hsa-mir-205_436	16.9624	12.5348	11.2266	0.0022	0.0115
hsa-miR-205-3p_hsa-mir-205_437	8.8086	2.5500	5.7516	0.0233	0.0664
hsa-miR-934_hsa-mir-934_2920	10.1573	3.8666	5.0035	0.0334	0.0893
hsa-miR-143-3p_hsa-mir-143_282	8.6395	13.0594	3.7228	0.0631	0.1365
hsa-miR-342-3p_hsa-mir-342_783	2.2053	7.3451	3.6991	0.0639	0.1372
hsa-miR-376c-3p_hsa-mir-376c_952	5.4191	-0.4163	3.2076	0.0841	0.1648
hsa-miR-130a-3p_hsa-mir-130a_243	3.1580	9.6470	3.1449	0.0863	0.1661
hsa-miR-145-3p_hsa-mir-145_286	7.0898	4.6258	2.9691	0.0951	0.1758
hsa-miR-143-5p_hsa-mir-143_281	7.3944	4.2559	2.8494	0.1017	0.1843
hsa-miR-145-5p_hsa-mir-145_285	6.4018	5.6178	2.4475	0.1281	0.2216
hsa-miR-944_hsa-mir-944_2937	4.0371	2.5734	2.2316	0.1456	0.2465
hsa-miR-204-5p_hsa-mir-204_434	4.1937	6.8540	1.7792	0.1922	0.3019
hsa-miR-139-5p_hsa-mir-139_273	-2.2417	4.9484	1.5113	0.2285	0.3445
hsa-miR-139-3p_hsa-mir-139_274	-1.7887	1.1247	1.3261	0.2585	0.3794
hsa-miR-643_hsa-mir-643_2268	0.4024	0.6634	0.2790	0.6012	0.7215
hsa-miR-543_hsa-mir-543_1875	0.6668	0.0543	0.1297	0.7213	0.7980
hsa-miR-130b-5p_hsa-mir-130b_244	0.1220	8.0839	0.0489	0.8264	0.8657

**Tabla 4.-** Identificación de microRNAs asociados a TNBC estadísticamente significativo

microRNAs_premicroRNAs	logFC	logCPM	Fold change	PValue	FDR
hsa-miR-122-5p_hsa-mir-122_77	-6.2441	0.4985	38.1541	0.0000	0.0000
hsa-miR-130b-3p_hsa-mir-130b_245	3.5386	9.4512	37.2946	0.0000	0.0000
hsa-miR-205-5p_hsa-mir-205_436	16.9624	12.5348	11.2266	0.0022	0.0115
hsa-miR-205-3p_hsa-mir-205_437	8.8086	2.5500	5.7516	0.0233	0.0664
hsa-miR-934_hsa-mir-934_2920	10.1573	3.8666	5.0035	0.0334	0.0893



**Figura 2.-** Red de genes blanco de hsa-mir-934. Se observan el top de genes blancos inferidos mediante mirNET. La escala de colores está basada en su Predicted occupancy del gen blanco con el microRNA, a mayor oscuro el color, mayor score de Predicted occupanc.

## CONCLUSION:

Con base a los resultados obtenidos en este proyecto de investigación podemos llegar a las conclusiones:

Se identificaron 20 microRNAs asociados a TNBC de los cuales 5 (hsa-miR-122-5p, hsa-miR-130b-3p, hsa-miR-205-5p, hsa-miR-205-3p y hsa-miR-934.) se asociaron estadísticamente.

Se identificó, de manera bioinformática, la predicción del mir 934 con 25 genes asociados a cáncer de mama triple negativo.

Se pretende que en un futuro cercano el tratamiento de las mujeres con cáncer de seno triple negativo podrá ser acompañado por terapias innovadoras como las de los microRNAs, con la finalidad de que las mujeres con cáncer puedan tener una atención personalizada, mejorando así su calidad de vida.

## CONFLICTO DE INTERES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## BIBLIOGRAFÍA

Hernández-Álvarez, Consuelo, Romo-Aguirre, Catalina, & Ortiz-de Iturbide, Cecilia. (2017). Cáncer de mama triple negativo: frecuencia y características en el Hospital Ángeles Pedregal. *Acta médica Grupo Ángeles*, 15(4), 269-274. Recuperado en 10 de octubre de 2022, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-72032017000400269&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032017000400269&lng=es&tlng=es). Marc R.

Friedländer, Sebastian D. Mackowiak, Na Li, Wei Chen, Nikolaus Rajewsky. miRDeep2 accurately identifies known and hundreds of novel microRNA genes in seven animal clades *Nucleic Acids Research*, Volume 40, Issue 1, 1 January 2022, Pages 37–52, <https://doi.org/10.1093/nar/gkr688>.

Feifei Xiao, Zhixiang Zuo, Guoshuai Cai, Shuli Kang, Xiaolian Gao and Tongbin Li. miRecords: an integrated resource for microRNA–target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan; 37(Database issue): D105–D110. doi: 10.1093/nar/gkn851

Ochoa Albíztegui, R., González Balboa, P., González Lozada, L., González Chávez, S., Fuentes Corona, R. & Barragán Patraca, D. (2014, 10 octubre). El papel de los microRNAs (microRNAs) en el cáncer de mama. <http://www.medigraphic.org.mx/>. Recuperado 10 de octubre de 2023, de <https://www.medigraphic.com/pdfs/abc/bc2014/bc144f.pdf>

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., ... Ideker, T. (2013). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 2498–2504

Edelman, L. B., Eddy, J. A., & Price, N. D. (2010). In silico models of cancer. *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine*, 2(4), 438–459. <https://doi.org/10.1002/wsbm.75>

Alcaide Lucena M, Rodríguez González CJ, de Reyes Lartategui S, Gallart Aragón T, Sánchez Barrón MT, García Rubio J, Torné Poyatos P. Clasificación actual del cáncer de mama. Implicación en el tratamiento y pronóstico de la enfermedad. *Cir Andal.*2021;32(2):155-59. [https://www.asacirujanos.com/admin/upfiles/revista/2021/Cir\\_Andal\\_vol32\\_n2\\_09.pdf](https://www.asacirujanos.com/admin/upfiles/revista/2021/Cir_Andal_vol32_n2_09.pdf)

- Ma, J.; Fang, L.; Yang, Q.; Hibberd, S.; Du, W.W.; Wu, N.; Yang, B.B. Posttranscriptional regulation of AKT by circular RNA angiomin-1 mediates chemoresistance against paclitaxel in breast cancer cells. *Aging* 2019, 11, 11369–11381. [CrossRef] 76.
- Zhong, Y.; Du, Y.; Yang, X.; Mo, Y.; Fan, C.; Xiong, F.; Ren, D.; Ye, X.; Li, C.; Wang, Y.; et al. Circular RNAs function as ceRNAs to regulate and control human cancer progression. *Mol. Cancer* 2018, 17, 79
- Fan, Y.; Wang, J.; Jin, W.; Sun, Y.; Xu, Y.; Wang, Y.; Liang, X.; Su, D. CircNR3C2 promotes HRD1-mediated tumor-suppressive effect via sponging miR-513a-3p in triple-negative breast cancer. *Mol. Cancer* 2021, 20, 25
- Folkman, J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin. Oncol.* 2002, 29 (Suppl. S16), 15–18
- Kong, D.; Shen, D.; Liu, Z.; Zhang, J.; Zhang, J.; Geng, C. Circ\_0008500 Knockdown Improves Radiosensitivity and Inhibits Tumorigenesis in Breast Cancer Through the miR-758-3p/PFN2 Axis. *J. Mammary Gland Biol.* 2022, 27,37–52.
- Wang, Q.; Liang, D.; Shen, P.; Yu, Y.; Yan, Y.; You, W. Hsa\_circ\_0092276 promotes doxorubicin resistance in breast cancer cells by regulating autophagy via miR-348/ATG7 axis. *Transl. Oncol.* 2021, 14, 101045.
- Zubair, M.; Wang, S.; Ali, N. Advanced approaches to breast cancer classification and diagnosis. *Front. Pharmacol.* 2021, 11, 2487