



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE ESTUDIOS IZTACALA  
BIOMEDICINA

**Identificación bioinformática de lncRNAs asociados a SCNAs reguladores  
del fenotipo tumoral en cáncer colorrectal.**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Héctor Herrera Orozco**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Carlos Guadalupe Pérez Plasencia**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM  
**COMITÉ TUTOR: Dr. Roberto Eduardo López Urrutia**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM  
**Dr. Guillermo Aquino Jarquin**  
Facultad de Medicina, UNAM



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
FACULTAD DE ESTUDIOS IZTACALA  
BIOMEDICINA

**Identificación bioinformática de lncRNAs asociados a SCNAs reguladores  
del fenotipo tumoral en cáncer colorrectal.**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**Héctor Herrera Orozco**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Carlos Guadalupe Pérez Plasencia**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM  
**COMITÉ TUTOR: Dr. Roberto Eduardo López Urrutia**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM  
**Dr. Guillermo Aquino Jarquin**  
Facultad de Medicina, UNAM

## **Agradecimientos Institucionales**

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, a su cuerpo colegiado y administrativo por la formación científica y humana que recibí en sus aulas profesionales, donde maduraron mis proyectos estudiantiles y personales en todo el sentido de la palabra.

Agradezco también el apoyo económico otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología para la realización de mis estudios de posgrado (CVU: 109693), y el apoyo PAPIIT otorgado por la UNAM para el Dr. Carlos Pérez Plasencia (IN231420) que a ambos nos permitió continuar con esta investigación.

Muy especialmente agradezco al Dr. Carlos Pérez Plasencia por su continuo apoyo, las incontables lecciones, el conocimiento y habilidades que me brindó como asesor y amigo. Al Dr. Eduardo López Urrutia por su cercanía y constante consejo. Al Dr. Guillermo Aquino Jarquín por su certera guía que me permitió solidificar este trabajo.

## **Agradecimientos Personales**

Quiero agradecer principalmente a mis padres, Gabriela y Héctor; quienes con su ejemplo e incansable trabajo me motivan a luchar por mis metas día con día, a no rendirme nunca y continuar siempre hacia delante. Gracias, papás este logro también es suyo. A mis hermanos Emiliano y Montserrat por siempre estar ahí, aguantar mi humor de perros y secundarme en mis locuras. Gracias Yuki, compañero de desvelos y proveedor de apoyo emocional.

Quiero agradecer a todos mis compañeros del laboratorio L11: JB, Julio, Beбето, Lil, José Carlos y Mariana. Ustedes hacen que el trabajo sea mucho más ligero, amigos. A la Dra. Verónica por seguirme enseñando la importancia del orden y la organización dentro del laboratorio.

A mis maestros y compañeros de la maestría en Ciencias Biológicas de la UNAM por todo lo aprendido, las clases y lecciones que me acompañaran en mi formación futura y mi vida laboral.

Quiero agradecer a los litros de café que fueron necesarios para terminar este trabajo y la tesis asociada. Finalmente, quiero agradecer a Alexandra Elbakyan, quien, con su lucha para abrir el conocimiento, poco a poco ayuda a salir de la cueva de Platón.

## **Dedicatoria**

A mis padres. Por sus sacrificios y grandeza en la lucha diaria... ¡Lo logramos y vamos por más! ¡Hasta la victoria siempre!

# Índice

1. Resumen.....	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción .....	3
3.1 Cáncer .....	3
3.2 Incidencia y Mortalidad .....	5
3.3 Epidemiología y Etiología del CCR.....	7
3.4 Patogénesis y clasificación del CCR.....	8
3.5 Inestabilidad Cromosómica (CIN) .....	12
3.6 Alteraciones Somáticas en el número de Copias (Somatic Copy Number Alterations, SCNAs).....	14
3.7 Transcriptoma No-Codificante .....	16
3.8 Long non-coding RNAs (lncRNAs) .....	16
3.9 lncRNAs en cáncer .....	20
3.10 Red de competencia endógena de RNAs (ceRNet).....	21
4. Hipótesis.....	25
5. Objetivos .....	25
6. Metodología .....	26
6.1 RNA-Seq .....	26
6.2 BiomaRt.....	27
6.3 Expresión diferencial .....	28
6.4 Agrupamiento Jerárquico .....	28
6.5 SCNAs.....	29
6.6 Interacciones DElncRNAs-DEmiRNAs .....	29
6.7 Interacciones DEmiRNA-DEmRNA .....	30
6.8 Correlación de Pearson lncRNA-mRNA .....	31
6.9 ceRNA network .....	31
6.10 Gene Ontology y KEGG.....	31
6.11 Curvas de Supervivencia.....	32
7. Resultados.....	33
7.1 lncRNAs Expresados Diferencialmente .....	33
7.2 lncRNAs asociados a SCNAs.....	35
7.3 miRNAs y mRNAs expresados diferencialmente .....	37
7.4 ceRNet.....	38
7.5 KEGG .....	40



7.6 GO .....	43
7.7 Curvas de Supervivencia .....	48
8. Discusión .....	54
9. Conclusiones .....	72
10. Referencias Bibliográficas .....	73
11. Anexo .....	83

## Índice de Figuras

<input type="checkbox"/> Figura 1: Hallmarks del Cáncer.....	4
<input type="checkbox"/> Figura 2: Progresión Tumoral.....	5
<input type="checkbox"/> Figura 3: Incidencia y Mortalidad de los principales tipos de cáncer.....	6
<input type="checkbox"/> Figura 4: Incidencia y Mortalidad estimadas del CCR. . . . .	6
<input type="checkbox"/> Figura 5: Factores de riesgo asociados a CCR. . . . .	8
<input type="checkbox"/> Figura 6: Secuencia Adenoma-Carcinoma. . . . .	10
<input type="checkbox"/> Figura 7: Consensus Molecular Subtypes. . . . .	12
<input type="checkbox"/> Figura 8: Diferentes definiciones de Aneuploidía. . . . .	15
<input type="checkbox"/> Figura 9: Mecanismos de regulación de la expresión genética de los lncRNAs.....	17
<input type="checkbox"/> Figura 10: Biogénesis de miRNAs.....	23
<input type="checkbox"/> Figura 11: LncRNAs expresados diferencialmente.....	34
<input type="checkbox"/> Figura 12: LncRNAs expresados diferencialmente por cromosoma . . . . .	34
<input type="checkbox"/> Figura 13: Frecuencia de SCNAs en pacientes con CCR.....	35
<input type="checkbox"/> Figura 14: LncRNAs expresados asociados a SCNAs. . . . .	36
<input type="checkbox"/> Figura 15: MiRNAs expresados diferencialmente.....	37
<input type="checkbox"/> Figura 16: MRNAs expresados diferencialmente.....	38
<input type="checkbox"/> Figura 17: Interacciones miRNA-mRNA comunes entre las bases de datos utilizadas. . . . .	39
<input type="checkbox"/> Figura 18: Red de Competencia Endógena de RNAs.....	40
<input type="checkbox"/> Figura 19: Análisis KEGG de DEmRNAs sobre – expresados. . . . .	41
<input type="checkbox"/> Figura 20: Análisis de los DEmRNAs sub – expresados. . . . .	42
<input type="checkbox"/> Figura 21: Análisis KEGG DEmRNAs.....	42
<input type="checkbox"/> Figura 22: Gráfica término-gen (KEGG). . . . .	43
<input type="checkbox"/> Figura 23: Análisis GO de DEmRNAs sobre-expresados.....	44
<input type="checkbox"/> Figura 24: Análisis GO de DEmRNAs sub-expresados. . . . .	45
<input type="checkbox"/> Figura 25. Análisis GO del efecto acumulativo de los DEmRNAs asociados a la ceRNet. . . . .	47
<input type="checkbox"/> Figura 26: Gráfica término-gen (GO) de DEmRNAs regulados por la ceRNet. ....	48
<input type="checkbox"/> Figura 27: Curva de supervivencia de expresión C5orf64: . . . . .	49
<input type="checkbox"/> Figura 28: Curva de supervivencia de C5orf64 por género. . . . .	49
<input type="checkbox"/> Figura 29: Curva de supervivencia de C5orf64 por Estadio.....	50
<input type="checkbox"/> Figura 30: Curva de supervivencia de expresión de HOTAIR:.....	51
<input type="checkbox"/> Figura 31: Curva de supervivencia de HOTAIR por género. . . . .	51
<input type="checkbox"/> Figura 32: Curvas de Supervivencia de HOTAIR por Estadio. . . . .	52
<input type="checkbox"/> Figura 33: Curva de supervivencia de expresión de RRN3P3:.....	52

□	<b>Figura 34: Curva de supervivencia de RRN3P3 por género.</b>	53
□	<b>Figura 35: Curva de supervivencia de RRN3P3 por Estadio.</b>	54

## Índice de Tablas

•	<b>Tabla 1: Clasificaciones de lncRNAs.</b>	20
•	<b>Tabla 2: Ejemplo de Matriz de raw counts.</b>	27
•	<b>Tabla 3: Lista completa de herramientas bioinformáticas.</b>	87
•	<b>Tabla 4: Lista completa de DElncRNAs asociados a SCNAs.</b>	88
•	<b>Tabla 5: Lista completa de interacciones lncRNA-miRNA-mRNA .</b>	96

## 1. Resumen

El Cáncer Colorrectal representa la segunda malignidad con mayor índice de mortalidad a nivel mundial. Alrededor del 75% de pacientes con CCR presentan altos niveles de Inestabilidad Cromosómica (CIN), que resultan en la acumulación de Alteraciones al Número de Copias Somáticas (SCNAs). Estas alteraciones frecuentemente se correlacionan con la amplificación de oncogenes y la delección de genes supresores tumorales y contribuyen al fenotipo tumoral en diferentes tipos de malignidades. Aun cuando esta relación está bien descrita, poco se sabe sobre el impacto de las alteraciones cromosómicas sobre la expresión de los lncRNAs y el efecto que tienen en el fenotipo de CCR.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el rol de los lncRNAs expresados diferencialmente en CCR como resultado de estar codificado en regiones genómicas con alteraciones al número de copias en pacientes con CCR. Se descargaron archivos de secuenciación de RNA del proyecto de Adenocarcinoma Colorrectal del TCGA, se evaluó la expresión diferencial y para identificar cuáles lncRNAs se encuentran codificados en regiones genómicas con SCNAs, se descargaron archivos de secuenciación genómica para mapear las alteraciones y los genes que los contienen. Se obtuvieron 78 lncRNAs expresados diferencialmente que se encuentran codificados en regiones con SCNAs ( $LFC < -1 \mid > 1$ ;  $padj < 0.05$ ).

Para evaluar el papel que tienen estos lncRNAs se planteó la construcción de una red de competencia endógena de RNAs (ceRNet), donde los lncRNAs actúen como reguladores de la expresión. Con este fin se identificaron 410 miRNAs y 5028 mRNAs expresados diferencialmente ( $LFC < -1 \mid > 1$ ;  $padj < 0.05$ ). La red se construyó prediciendo las interacciones lncRNA – miRNA – mRNA utilizando técnicas de minería de datos y correlaciones de Pearson entre los lncRNAs y los mRNAs para la significancia estadística ( $p < 0.05$ ). Dicha red constó de 30 lncRNAs, 19 miRNAs y 77 mRNAs.

Una vez construida la red, se propuso evaluar cómo podría participar en el fenotipo tumoral en CCR se realizaron análisis de enriquecimiento de vías de señalización (KEGG) y procesos biológicos (GO), se encontraron enriquecidos procesos y vías de señalización anti y pro – tumorales.

Finalmente, se evaluó si la expresión de los lncRNAs asociados a la ceRNet tenían correlación con el pronóstico de los pacientes. Se corrieron curvas de supervivencia con la expresión de

los lncRNAs y se encontró que C5orf64, HOTAIR y RRN3P3 presentan correlaciones significativas por lo que poseen potencial como biomarcadores para pacientes con CCR.

Se concluyó que los lncRNAs que se expresan de forma diferencial como resultado de estar codificado en regiones genómicas con alteraciones al número de copias pueden actuar como reguladores de una ceRNet que participa en el enriquecimiento de procesos de importancia tumoral; además de ser el primer reporte para CCR de C5orf64 y RRN3P3.

## **2. Abstract**

Colorectal Cancer (CCR) represents the second deadliest malignancy worldwide. Around 75% of CCR patients present high levels of Chromosome Instability (CIN) that results in the accumulation of Somatic Copy Number Alterations (SCNAs). These SCNAs are associated with the amplification of oncogenes and deletion of tumor suppressor genes and contribute to the tumoral phenotype in different malignancies. Even when this relationship is well-known, much is left to investigate if and how do SCNAs affect lncRNAs and in turn, the impact these alterations have in CCR phenotype.

The present study aims to evaluate the role of differentially expressed lncRNAs in CCR because of being coded in regions with SCNAs in CCR patients. We obtained RNA-seq files of the Colorectal Adenocarcinoma Project from the TCGA repository, differential expression was evaluated; then to identify which lncRNAs were coded in regions affected with SCNAs we downloaded genome sequencing data and mapped said alterations and the genes within them. We obtained 78 differentially expressed ( $LFC > 1 \mid < -1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ ) lncRNAs coded in SCNAs, 410 miRNAs and 5028 mRNAs. We constructed a ceRNA network, predicting interactions lncRNA-miRNA-mRNA with data mining techniques and significant Pearson correlations between lncRNA and mRNA expression ( $p < 0.05$ ), said network consisted of 30 lncRNAs, 19 miRNAs and 77 mRNAs.

To understand the role that our ceRNA network plays, we performed KEGG and GO analysis and found several oncogenic and antioncogenic processes enriched by the molecular players in the ceRNA network. Finally, we evaluated if the expression of our ceRNet – associated DElncRNAs was correlated with the survival probability of the patients. We found that C5orf64, HOTAIR and RRN3P3 were associated with the prognosis of the CCR patients, and thus they could act as potential biomarkers. Our results show that lncRNAs coded in regions

affected by SCNAs constitute a complex gene expression regulatory network associated with CCR phenotype.

### 3. Introducción

#### 3.1 Cáncer

Cáncer se define como conjunto de enfermedades genéticas cuya principal característica es la proliferación celular descontrolada. La pérdida del control sobre la proliferación celular facilita la formación de tumores malignos que pueden adquirir la capacidad de invadir tejidos cercanos, e inclusive diseminarse a través del sistema circulatorio o linfático formando tumores en tejidos distantes del tumor primario (metástasis) que ponen en riesgo la vida de los pacientes (National Cancer Institute, 2015).

A lo largo del proceso oncogénico, las células tumorales acumulan una gran cantidad de alteraciones (tanto moleculares como epigenéticas) que pueden presentarse en el orden de  $10^4 - 10^5$  mutaciones, entre las cuales se observan modificaciones puntuales a la secuencia de DNA, re-arreglos genómicos (inserciones, deleciones) y alteraciones al número de copias somáticas (SCNAs); las cuales se pueden originar por procesos fisiológicos, o el efecto de agentes químicos que dañen el DNA (Ashworth et al., 2011).

Dependiendo del efecto sobre el fenotipo tumoral, los genes se pueden caracterizar en dos grandes grupos: 1) “Oncogenes”, que sufren mutaciones activadoras o de ganancia de función y 2) “Genes Supresores Tumorales” que sufren mutaciones inactivantes o de pérdida de función, es necesaria la combinación de ambas para llevar a cabo la progresión tumoral (Ashworth et al., 2011).

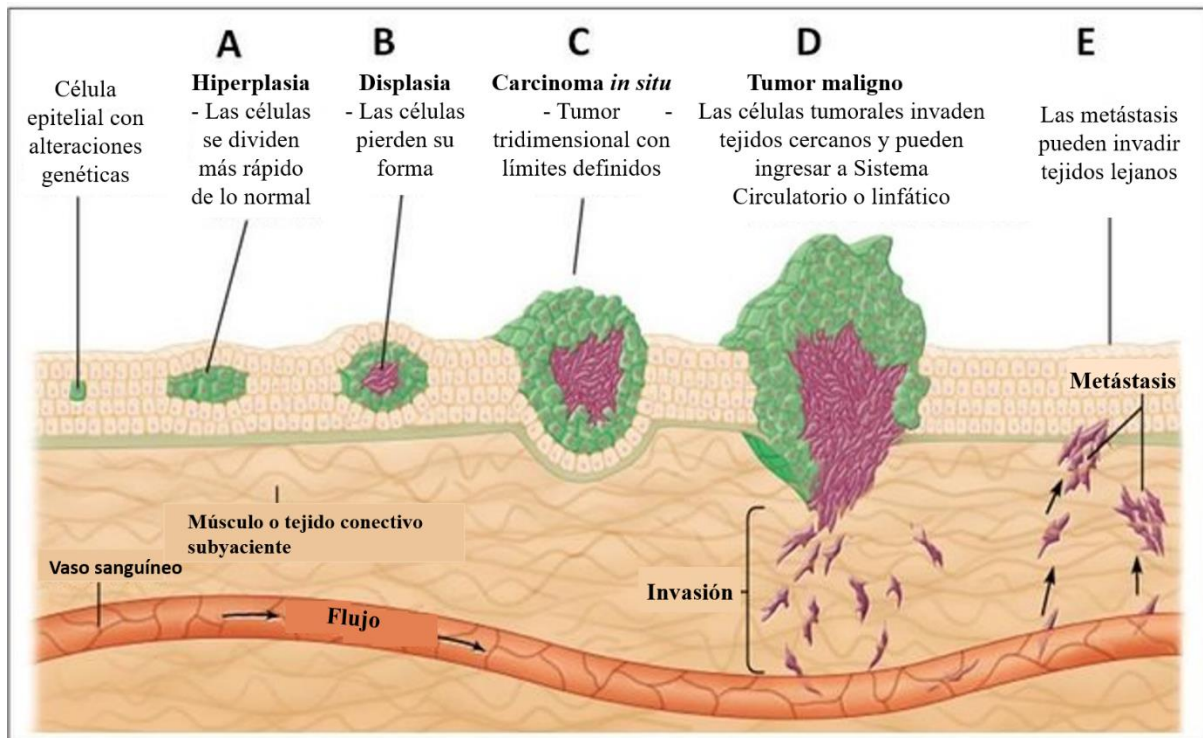
Se ha propuesto que esta acumulación de alteraciones ocurre gradualmente siguiendo un proceso similar a la lógica de la selección Darwiniana, en la cual las alteraciones confieren alguna ventaja adaptativa que favorece el crecimiento tumoral (Hanahan & Weinberg, 2000). Cada una de estas características representa una adaptación exitosa para evadir los mecanismos de defensa naturales de las células en condiciones basales, y de esta manera, al favorecer la progresión tumoral, se ha descrito que son compartidas por los diferentes subtipos tumorales, lo que les ha ganado el nombre de “*Hallmarks del Cáncer*” (Fig.1).



• **Figura 1: Hallmarks del Cáncer.** Modificado de (Hanahan, 2022)

La acumulación de mutaciones, tanto oncogenes, como supresores tumorales ocurre paulatinamente; de esta forma, la progresión tumoral prosigue en distintos estadios (**Fig.2**) que van desde pocas células con fenotipo maligno, que comienzan a proliferar de manera excesiva (*hiperplasia*), lo que posteriormente va a llevarlas a modificar de manera significativa su forma y orientación (*displasia*); de continuarse la acumulación de mutaciones, se forma un tumor tridimensional con límites aún definidos (*carcinoma in situ*), posteriormente invadir los tejidos cercanos e inclusive ingresar a nódulos linfáticos y vasos sanguíneos, que pueden diseminar células tejidos lejanos, y finalmente convertirse en *tumor maligno* (Weinberg, 1996).

Para poder evaluar el avance del tumor y la prognosis de los pacientes, se planteó una convención llamada TNM que toma en cuenta cuatro posibles estadios de clasificación, con base en tres criterios T – estadio del tumor, N – si existe afectación a nódulos linfáticos y cuántos se encuentran afectados, M – si existe metástasis y qué tan severa es. El primer estadio (Estadio 0) es el *carcinoma in situ*, los Estadios 1 y 2, son aquellos tumores que siguen sin romper el epitelio que los delimita, posteriormente, el Estadio 3, son aquellos tumores con invasión a tejidos cercanos y el último estadio (peor prognosis para el paciente), el Estadio 4, son aquellos tumores con metástasis (Sobin et al., 2011).



- **Figura 2: Progresión Tumoral.** Transformación de una célula epitelial en condiciones basales hasta la formación de un tumor maligno. A) Hiperplasia, B) Displasia, C) Carcinoma *in situ*, D) Tumor maligno y E) Metástasis en un tejido lejano. Modificada de Shahzina (2013).

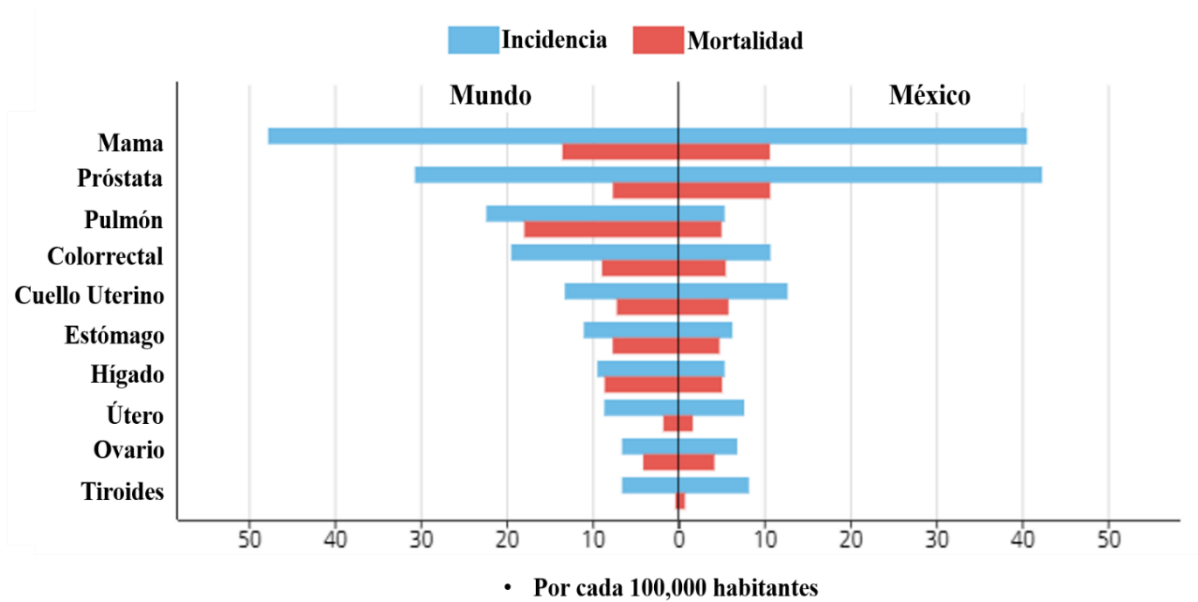
### 3.2 Incidencia y Mortalidad

El cáncer representa un problema de salud pública a nivel mundial, debido a que se encuentra dentro de las principales causas de muerte antes de los 70 años en 112 de 183 países (WHO, 2020). De esta manera, el cáncer disminuye la esperanza de vida en dichos países y se estima que esta tendencia continúe en aumento, debido al incremento de los factores de riesgo asociados a la enfermedad

Para el año 2020 se estimaron más de 19 millones de casos nuevos de los 36 tipos de cáncer a nivel mundial, de los cuales el 52.17% fueron hombres, y el 47.83% mujeres. Dentro de los principales tipos de cáncer, el cáncer de mama es el más frecuente con el 11.7% de los casos, seguido por el cáncer de pulmón (11.4%), el cual, a su vez, tiene la tasa de mortalidad más alta con el 18% en ambos sexos.

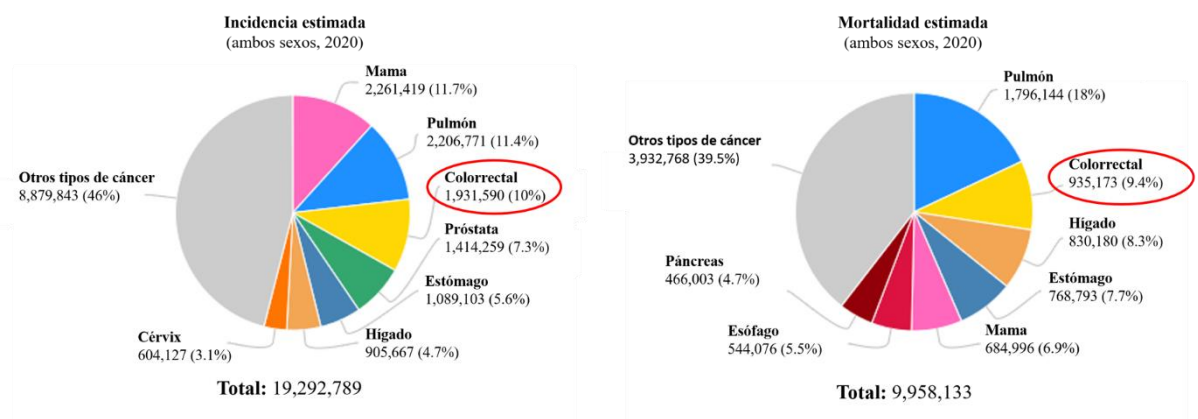
Como se puede observar en la **Fig.3**, esta tendencia también se reproduce a nivel nacional donde se reportaron 195,499 casos nuevos de cáncer y 90,222 muertes para el año 2020. De la

misma forma, se observa que el cáncer de mama ocupa el primer lugar en incidencia y mortalidad con el 15.3% y el 8.8% de los casos respectivamente, seguido por el cáncer de próstata con el 13.7% de incidencia (Sung et al., 2021).



• **Figura 3: Incidencia y Mortalidad de los principales tipos de cáncer estandarizado por edad. México vs Mundo, por cada 100,000 habitantes, Modificado de Sung et al., 2021.**

Uno de los tipos de cáncer que ha llamado la atención en años recientes, debido al incremento tanto en la incidencia como en la mortalidad, es el cáncer Colorrectal (CCR). Se reporta que, a nivel mundial, el CCR ocupa el 3° lugar en incidencia y el 2° en mortalidad (**Fig.4**). De esta manera, la investigación biomédica se ha abocado a dilucidar los mecanismos moleculares que subyacen a dicha enfermedad.



• **Figura 4: Incidencia y Mortalidad estimadas del CCR. A nivel mundial, ambos sexos en el año 2020. Modificada de Sung et al., 2021.**

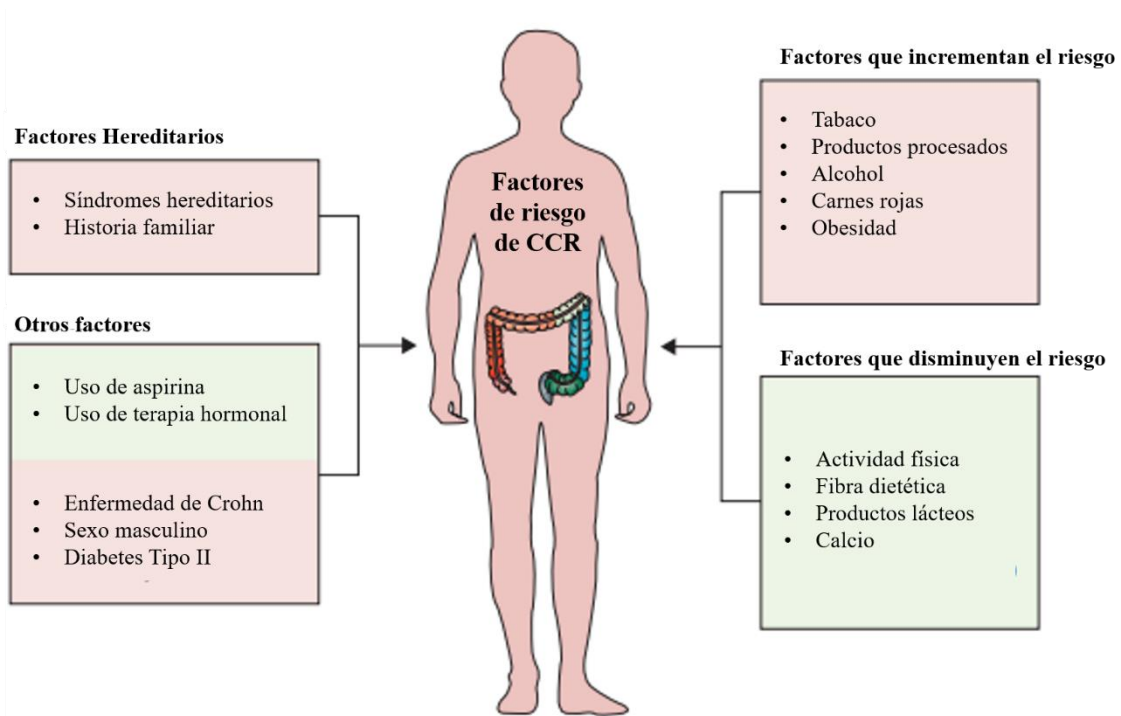


### 3.3 Epidemiología y Etiología del CCR

A nivel mundial se detectaron poco más de 1.9 millones de casos nuevos de CCR, además, de 0.9 millones de fallecimientos por esta enfermedad en el año 2020, por lo que se estima que alrededor de uno de cada dos pacientes que desarrollan CCR lamentablemente fallecen (Sung et al., 2021). En años recientes, se ha observado que la incidencia del CCR ha ido en aumento, particularmente en países en desarrollo y se espera que esta cifra continúe con la tendencia ascendente, puesto que se ha estimado que para el año 2035 exista un total de 2.5 millones de casos nuevos (Dekker et al., 2019). En los países desarrollados, se ha reportado una estabilización en la incidencia y una disminución en la mortalidad, sobre todo por el incremento en el uso de técnicas de detección temprana (e.g. colonoscopia de rutina; Brenner et al., 2014).

Además del incremento de casos que se ha detectado en los países en desarrollo, también se ha reportado una disminución significativa en la edad de detección, puesto que anteriormente la edad media de detección era alrededor de los 70 años, y en reportes recientes se ha observado que ésta ronda alrededor de los 50 años (Bailey et al., 2015).

Estas tendencias se explican por la persistencia de los factores de riesgo asociados a la enfermedad, principalmente los hábitos de vida de los pacientes (i.e. alto consumo de carnes rojas y procesadas, bajos niveles de actividad física, el consumo de tabaco, etc, **Fig.5**), y la falta de detección temprana de la enfermedad (Siegel et al., 2017); lo que está directamente relacionado con la prognosis de los pacientes (Miller et al., 2019). Además de los factores de riesgo que son modificables, existe un fuerte componente genético detrás del CCR, como lo son la Poliposis Adenomatosa Familiar (FAP) o el Síndrome de Lynch; de esta manera entre el 15% y el 30% de casos tienen un fuerte componente hereditario (Dekker et al., 2019).



- **Figura 5: Factores de riesgo asociados a CCR.** En rosa se pueden observar factores que incrementan el riesgo, en verde aquellos que lo disminuyen. Modificada de Dekker (2019).

Existen otros factores que predisponen a desarrollar CCR, como lo son enfermedad de Crohn (i.e. inflamación constitutiva del intestino), las infecciones por bacterias como lo son *Helicobacter pylori* o el género *Fusobacterium* spp, e inclusive la diabetes tipo II (Brenner et al., 2014). De esta manera, se ha descrito que el CCR es un tipo de cáncer muy heterogéneo, lo que dificulta el tratamiento si la detección no ocurre en los estadios tempranos.

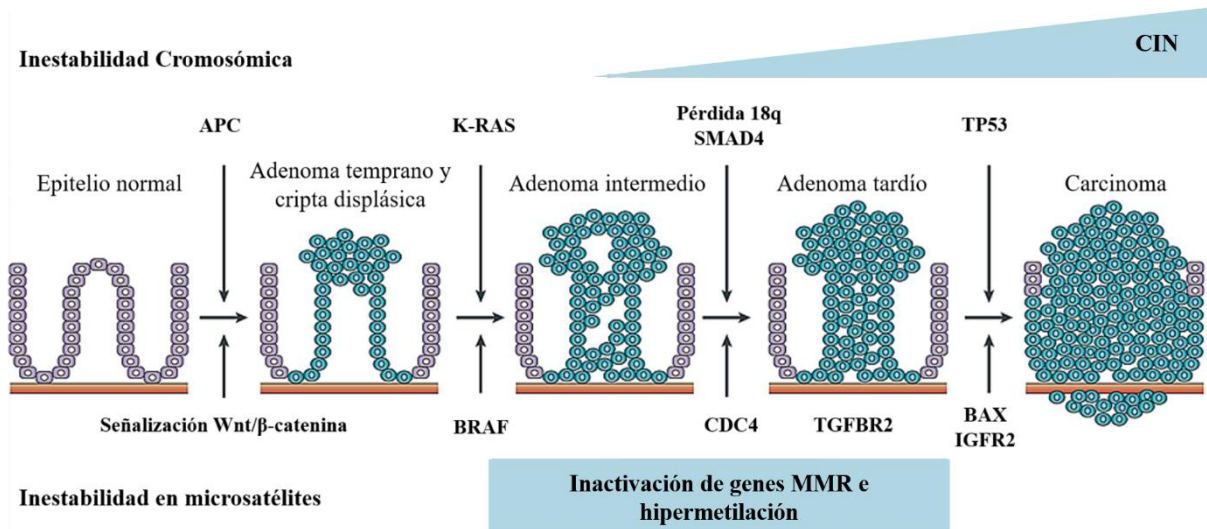
### 3.4 Patogénesis y clasificación del CCR

La mayoría de los casos de CCR se originan a partir de lesiones pre-neoplásicas en criptas colónicas que se vuelven aberrantes mediante la acumulación de alteraciones moleculares y epigenéticas bien definidas a lo largo de 10-15 años en un proceso llamado “Secuencia de Adenoma-Carcinoma” que representa entre el 70-90% de la totalidad de casos de CCR. Existe un segundo tipo de lesiones precursoras de CCR llamadas lesiones “aserradas”, que representan entre el 10-20% de casos de CCR y ocurren principalmente en el colon ascendente (Dekker et al., 2019). Entre el 7-10% de los casos está asociado a los factores hereditarios que se mencionaron anteriormente.

El síndrome de Lynch es una enfermedad autosomal dominante, causada por la herencia de mutaciones a los genes de Reparación de Mismatch del DNA (MMR, *Mismatch Repair*), particularmente los genes MLH1 (3p22.2), MSH2 (2p21) y, PMS2 (7p22.2) incrementando la susceptibilidad a la acumulación de mutaciones y el riesgo a desarrollar CCR desde temprana edad, se ha descrito que es el síndrome hereditario más común que predispone a desarrollar CCR con ~3% de los casos (Helderman et al., 2021).

El segundo síndrome que predispone a desarrollar CCR es la FAP. Síndrome autosomal recesivo que genera miles de pólipos a lo largo del colon debido a mutaciones germinales del gen APC (5q21), se ha descrito que APC actúa como proteína de andamiaje en el complejo de degradación de la vía de Wnt/ $\beta$ -catenina, es decir, participa en la degradación de la  $\beta$ -catenina en el citoplasma (Kwong & Dove, 2009). La acumulación de la  $\beta$ -catenina en el citoplasma, permite que esta se trasloque al núcleo donde puede actuar como factor transcripcional, interactuando con TCF/LEF y favoreciendo la transcripción de genes que activen procesos proliferativos, como lo son c-Myc, SNAIL-1 y K-RAS (Zhang & Shay, 2017), facilitando el desarrollo de CCR. Sin embargo, se ha observado que esta mutación no es exclusiva para los pacientes que padecen de FAP; sino que, es uno de los eventos tempranos clave para el desarrollo de CCR de manera esporádica.

Como se mencionó anteriormente, los casos de CCR esporádicos representan entre el 70% y el 85% del total, y se caracterizan por seguir la secuencia de adenoma-carcinoma (**Fig.6**), es decir la acumulación de mutaciones que permiten primero el desarrollo de un tumor que afecte la mucosa intestinal y degenere en un carcinoma sólido que afecta todas las capas intestinales (Nguyen & Duong, 2018). Dicha secuencia inicia con la pérdida bialélica de APC; inclusive si APC no se encuentra mutado aproximadamente la mitad de los casos tienen mutaciones activadoras del gen de la  $\beta$ -catenina, demostrando así la necesidad de activar la proliferación mediada a través de la vía de Wnt/ $\beta$ -catenina (el Bali et al., 2021).



- Figura 6: Secuencia Adenoma-Carcinoma.** Se puede observar la serie de alteraciones moleculares que ocurren a lo largo de la secuencia. Iniciando con la pérdida de APC, se genera un adenoma temprano, al incrementarse la tasa de mutaciones, puede ocurrir una mutación activadora de K-Ras, seguido de la pérdida de los supresores tumorales SMAD4 y TP53, que permite el desarrollo de un adenoma tardío y el carcinoma respectivamente. Modificado de Dominic, Feroz, Muralidharan, Ahmed, & Thirunavukarasu, 2020.

La secuencia de adenoma-carcinoma continúa con las mutaciones activantes del oncogen K-RAS, que participa procesos celulares como proliferación, crecimiento, supervivencia, etc. (Al-Sohaily et al., 2012). Durante la transformación de adenoma tardío a carcinoma ocurre la pérdida de genes supresores tumorales como son SMAD4 y TP53; en el caso de SMAD4 (18q21), se ha reportado que la pérdida alélica ocurre en aproximadamente el 60% de casos, y su inactivación exagera la actividad de la vía de TGF- $\beta$ , favoreciendo la resistencia a la apoptosis (el Bali et al., 2021).

La pérdida de supresores tumorales está acompañada de una serie de errores asociados a la reparación de daño a DNA que genera amplificaciones y deleciones, eventos duplicativos o de pérdida de regiones cromosómicas que afectan la estructura cromosómica y generan aneuploidías, es decir, altos niveles de inestabilidad cromosómica (CIN) que están asociados a los estadios avanzados de la progresión tumoral y son marcadores tumorales claros (Brenner et al., 2014).

Se ha descrito que dentro de los tipos de CCR esporádico, el ~15% de casos se originan por lesiones aserradas y alteraciones moleculares diferentes como lo son mutaciones en BRAF, y un fenotipo metilador de las islas CpG, particularmente al promotor de MLH1, generando altos niveles de inestabilidad en los microsatélites (Bettington et al., 2013; Dekker et al., 2019).

Con base en la patología, y el fenotipo de las mutaciones y vías de señalización alteradas, se ha propuesto un sistema de clasificación que reconoce cuatro subtipos de CCR (Dientsmann et al., 2017; Guinney et al., 2015; Linnekamp et al., 2018; Müller et al., 2016; Thanki et al., 2017), llamado Consensus Molecular Subtypes (CMS, Fig.7)

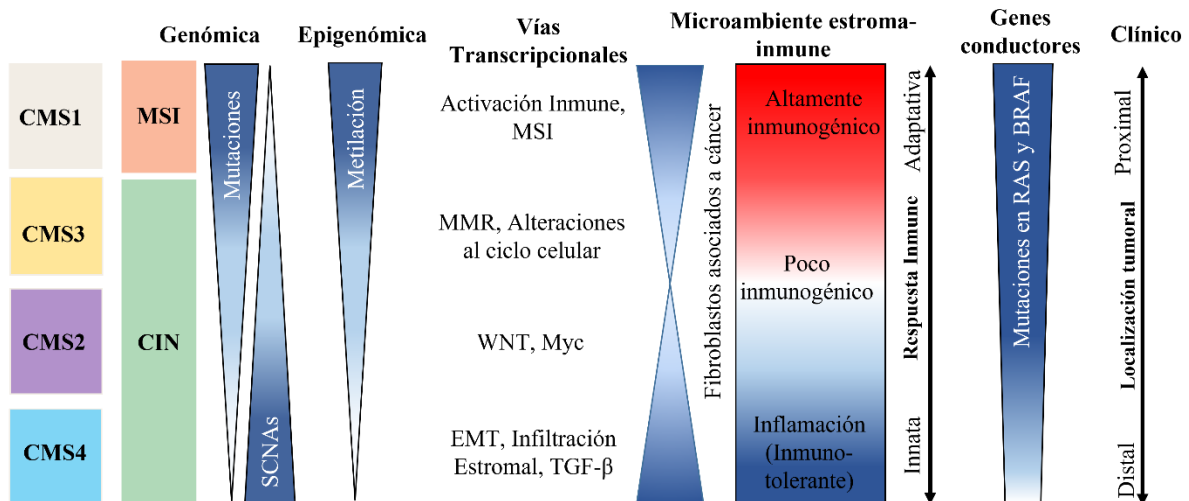
- **CMS1 (MSI-Inmune; 14%):** Los tumores pertenecientes a este grupo, se caracterizan por presentar una alta tasa de mutaciones por fallas en los mecanismos de MMR (MLH1), además de altos niveles de expresión de proteínas relacionadas a reparación del daño a DNA; y un perfil de hipermetilación generalizada. De la misma forma, se reportó que poseen las tasas más bajas de SCNAs de los cuatro subtipos moleculares. Este subtipo se caracteriza por la mutación en BRAF. Una de las características que separa a este subtipo es la actividad de genes asociados a la infiltración de células del sistema inmune (e.g.  $T_H1$  y  $CD8^+$ ).

- **CMS2 (Canónico; 37%):** Se ha descrito que este grupo posee los niveles más altos de SCNAs, de la misma forma es el subtipo con mayor número de amplificaciones de oncogenes y de deleciones de genes supresores tumorales. Se ha descrito que el evento más común en este subtipo molecular es la activación constitutiva de la vía de Wnt y de c-Myc, que participan en la actividad aberrante de procesos protumorales.

- **CMS3 (Metabólico, 13%):** Se reportó que este grupo de tumores tienen un porcentaje menor de SCNAs que el CMS4, sin embargo, parte del fenotipo se sobrelapa con el CMS1, debido a que alrededor del 30% de los casos tienen un estatus de hipermutado. Por otro lado, se ha visto que tienen un fenotipo de metilación a las islas CpG, diferente del observado en el CMS1. Una de las mutaciones características de este subtipo es la activación de K-RAS. Este subtipo recibe el nombre de metabólico debido a la desregulación generalizada que existe en las vías energéticas celulares

- **CMS4 (Mesenquimal, 23%):** Este grupo se caracteriza por tener niveles similares de SCNAs al CMS2, lo que lo vuelve uno de los más agresivos. Este subtipo molecular tiene un claro patrón de expresión asociado a la transición epitelio mesénquima (EMT; i.e. TGF- $\beta$ ), y genes asociados a la infiltración mesenquimal.

Además de los subtipos que tienen un fenotipo que los define, se reporta que el CCR es un tipo de cáncer muy heterogéneo, por lo que el 13% restante se considera un fenotipo en transición (o mixto), debido a la alta variabilidad intratumoral (Müller et al., 2016).



- **Figura 7: Consensus Molecular Subtypes.** Se pueden observar los diferentes criterios utilizados para la caracterización molecular de los cuatro subtipos de CCR. Modificado de Dientsmann et al., 2017.

### 3.5 Inestabilidad Cromosómica (CIN)

Como se mencionó en la sección anterior, alrededor del 70% de casos de CCR, están asociados a altos niveles de Inestabilidad Cromosómica (CIN), debido a que ésta facilita la adquisición de mutaciones (Müller et al., 2016).

La CIN hace referencia a la ganancia o pérdida de porciones significativas de los cromosomas que resultan en alteraciones cariotípicas. Se ha reportado que la CIN tiene como efectos principales aneuploidías (i.e. anomalías en el número de copias de los cromosomas), amplificaciones y deleciones subcromosómicas y altos índices de pérdida de la heretocigocidad (LOH; por las siglas en inglés), entre otros (Pino & Chung, 2010).

Una de las posibles vías para la adquisición de CIN en CCR, es mediante alteraciones en los mecanismos de segregación cromosómica durante la división mitótica. Se sabe, que el *checkpoint* de la fase M durante el ciclo celular, se asegura que los cromosomas se hayan segregado correctamente durante la Anafase; sin embargo, fallas en los mecanismos de regulación (e.g. en los genes MAD y BUB) pueden facilitar la distribución inequitativa de cromátides a las células hijas (Pino & Chung, 2010; Thompson et al., 2010). Por otro lado, se ha visto que aquellas mutaciones que afecten a las proteínas encargadas de regular la cohesión de las cromátides hermanas (e.g. Sgo1), o que expresen una forma no degradable de la *Securina*, incrementan el número de células tetraploides (Dai et al., 2012; Mora-Santos et al., 2013).

Una de las causas más comunes de CIN en las diferentes malignidades son los centrómeros rezagados durante la Anafase. Estos se ven representados por cromátides que no logran segregarse, debido a que el Cinetocoro se une a microtúbulos que están orientados en el sentido opuesto (i.e. conformación merotética; Vitre & Cleveland, 2012). Aunque cromosomas merotéticos pueden ocurrir de manera estocástica en las etapas tempranas de la Anafase, es necesario que estos se corrijan para evitar que se hereden cromosomas con errores a las células hijas (Thompson et al., 2010).

Muchos de los eventos que generan cromosomas extras en las células tumorales se pueden dar por la presencia de centrosomas extras, debido a que son los encargados de coordinar la mitosis, facilitando la reorganización de los microtúbulos en el aparato del huso mitótico (Pino & Chung, 2010). Al existir centrosomas extras, se permite la formación de un huso multipolar, incrementando la tasa de merotelia y errores en la segregación cromosómica (Godinho & Pellman, 2014); los centrosomas supernumerarios pueden generar como un subproducto de las células tetraploides, por errores durante el ciclo de replicación de los centrosomas (Thompson et al., 2010) o por la sobreexpresión de AURKA (Nikonova et al., 2013).

Otro mecanismo importante de la CIN está relacionado a la disfunción de los telómeros. Una vez que se elimina la protección telomérica, los extremos de los cromosomas empiezan un ciclo de ruptura-fusión-puente durante múltiples eventos replicativos que puede llevar a grandes reorganizaciones genómicas (Thompson et al., 2010). Se ha visto que esto solo ocurre en etapas tempranas del desarrollo tumoral, debido a que, en las etapas más avanzadas, se requiere que las células se inmortalicen para poder formar macro-tumores (Begus-Nahrmann et al., 2021).

La CIN resulta en la adquisición de alteraciones genómicas que pueden ser mutaciones puntuales, translocaciones e inclusive alteraciones al número de copias somáticas (SCNAs). Estos últimos eventos han sido identificados en múltiples malignidades, debido a que suelen acumularse a lo largo de la progresión neoplásica (Beroukhim et al., 2010). La forma en la que la CIN favorece el crecimiento tumoral es generando diversidad fenotípica sobre la cual puede actuar la selección natural y facilitar la adquisición de adaptaciones que permitan la evolución tumoral (Sansregret & Swanton, 2017).

### 3.6 Alteraciones Somáticas en el número de Copias (Somatic Copy Number Alterations, SCNAs)

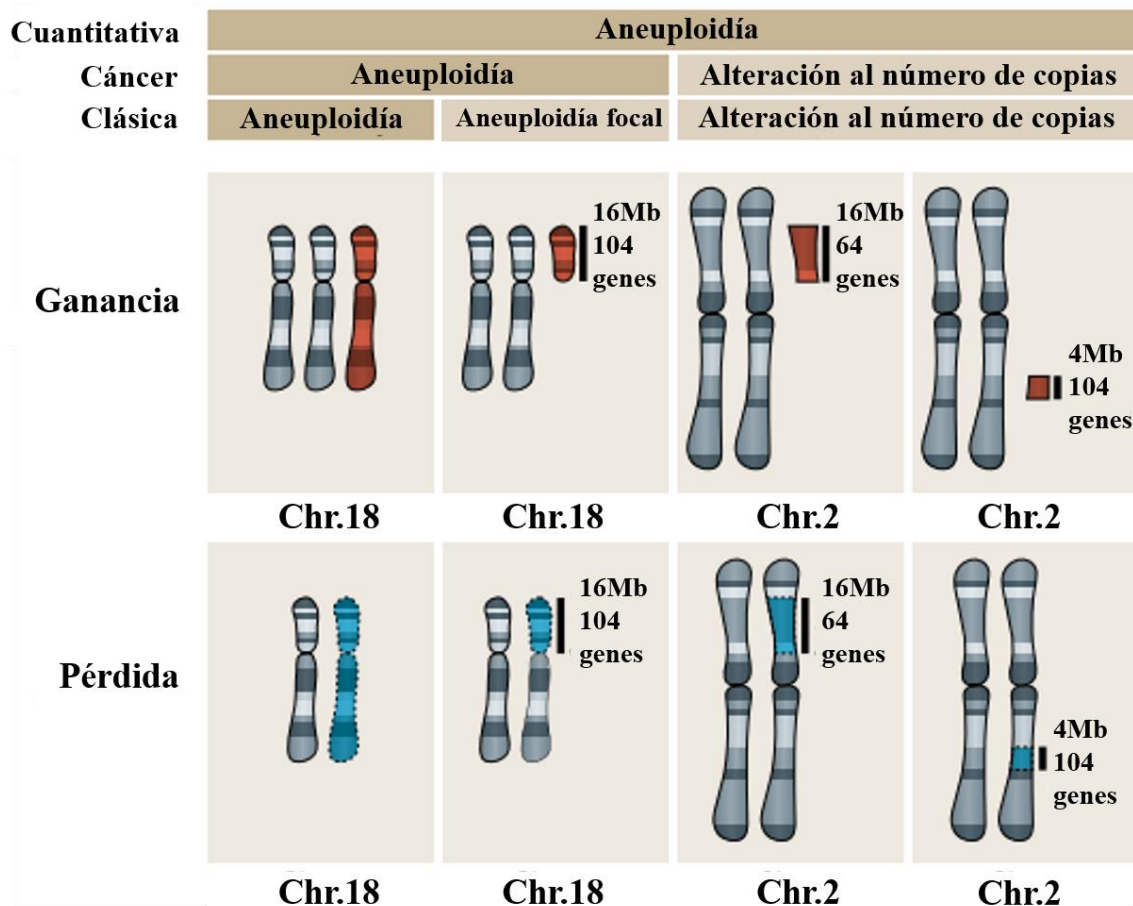
Los SCNAs son cambios somáticos (i.e. mutaciones no heredables) a la estructura de los cromosomas que resultan en la pérdida o ganancia de copias de DNA, presentes en diversos tipos de cáncer (Beroukhim et al., 2010). *Sensu stricto*, cualquier modificación al estado  $2n$  de las regiones de DNA es un CNA (**Fig.8**), sin embargo, semántica e históricamente se ha hecho la separación en aneuploidías (i.e. alteraciones que afectan el número de cromosomas), SCNAs focales (i.e. alteraciones que miden menos del brazo de un cromosoma) y en *indels* o SCNAs puntuales (Harbers et al., 2021).

El hecho de que la aneuploidía se encuentre tan presente en diferentes tipos de cáncer (90% de tumores sólidos; generalmente con un ~25% de genoma aneuploide) resulta paradójico, puesto que se ha observado que la aneuploidía resulta perjudicial para las células en condiciones basales, sin embargo, la mayoría de las células tumorales resisten estas alteraciones; e inclusive se benefician de ellas. Algunos autores mencionan que pueden existir SCNAs clave para conducir la tumorigénesis (Ben-David & Amon, 2020).

El impacto que los SCNAs tengan sobre el tumor, va a depender en gran medida del contexto en el que ocurra, la magnitud de la alteración y el SCNA *per se*. Se ha visto que las ganancias de un solo cromosoma tienen impactos negativos en la capacidad proliferativa e induce diferentes respuestas a estrés (Williams et al., 2008); por el contrario, se ha observado casos donde trisomías sencillas tienen un impacto positivo en la tumorigénesis, particularmente en CCR (Yona et al., 2012). De esta manera, el efecto de las SCNAs será el resultado de múltiples factores (i.e. estadio del tumor, tejido, genes que se vean afectados, etc. (Ben-David & Amon, 2020).

El impacto de los SCNAs varía dependiendo del estadio tumoral, tumores en etapas tempranas poseen en proporción una menor cantidad de alteraciones genómicas de este tipo, y que conforme progresa la enfermedad se acumulan (Sansregret & Swanton, 2017). Los SCNAs que confieren ventajas adaptativas ocurren a lo largo de todo el proceso tumoral desde las etapas tempranas (Gao et al., 2016), facilitando la transformación de carcinoma *in situ* a tumor invasivo (Rane et al., 2015) e inclusive el desarrollo de metástasis (Wang et al., 2020).





- Figura 8: Diferentes definiciones de Aneuploidía.** Se puede observar que todas las alteraciones de acuerdo a la definición cuantitativa pueden ser llamadas aneuploidías. Para la definición de Cáncer sólo si se gana o pierde todo un brazo de cromosoma o más se considera aneuploidía; y para la definición clásica, va a depender del contexto para llamarse aneuploidía, SCNA focal o solo SCNA. Modificado de Harbers et al., 2021.

Los patrones de SCNAs ocurren de manera altamente tejido-específica, afectando genes relacionados a procesos biológicos específicos (i.e. amplificación de genes relacionados a proliferación, resistencia a la apoptosis, asociados a la EMT; y la delección de genes supresores tumorales, (Sack et al., 2018). Un ejemplo es la ganancia de 13q en CCR, la cual comúnmente se pierde en cáncer de células escamosas (grupo heterogéneo de cáncer de piel; Ben-David & Amon, 2020).

Recientemente se han reportado que las SCNAs no solo afectan al genoma codificante, sino que también tienen un efecto sobre el llamado Transcriptoma No-Codificante, principalmente sobre los lncRNAs; lo que ha permitido caracterizar diversos subtipos de cáncer mediante firmas de expresión (Zheng et al., 2020; Zhong et al., 2021) y la caracterización de diversos lncRNAs que pueden estar participando en procesos oncogénicos (Volders et al., 2018).

### 3.7 Transcriptoma No-Codificante

Alrededor del 90% del genoma humano es transcrito activamente y se asocia con (al menos) un transcrito primario; los genes codificantes para proteínas representan alrededor del 2-5% de transcritos detectados, mientras que la gran mayoría, son transcritos que nunca llegan a proteína; este fenómeno es conocido como Transcripción Penetrante (Jarroux et al., 2017). Resultados similares fueron descritos en ratones (Stamatoyannopoulos et al., 2012) y en *Saccharomyces cerevisiae* (David et al., 2006).

El tamaño de los RNAs, permite clasificarlos en dos grandes grupos: Los transcritos que midan menos que 200 nts son llamados *short non-coding RNAs* y todos aquellos transcritos que midan más de 200nts, se les denomina *long non-coding RNAs* (lncRNAs; (Jarroux et al., 2017).

Dentro de los sncRNAs se encuentran los Piwi-interacting RNAs (piRNAs) son transcritos que tienen 26-30 nucleótidos de longitud con una 2'-O metilación en el extremo 3' (Krishnan & Damaraju, 2018). Los piRNAs están encargados del silenciamiento de genes mediante la interacción con las proteínas Piwi, principalmente regulando negativamente la actividad de transposones para mantener la integridad del genoma en las células germinales.(X. Wu, Pan, et al., 2020): de esta forma, se ha visto también que la expresión alterada de los piRNAs ha sido asociada con diversos tumores (Cheng et al., 2011).

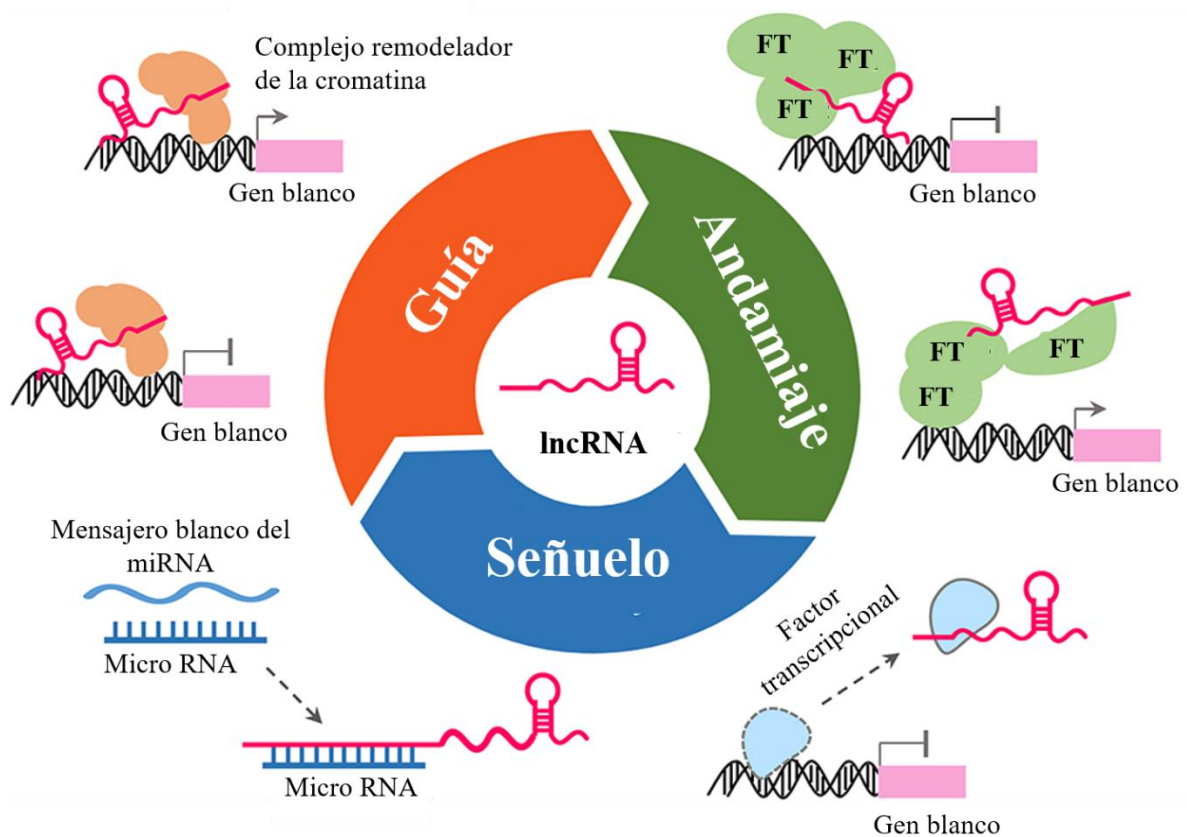
Otro ejemplo de sncRNAs son los snoRNAs. Los snoRNAs son transcritos de 60-300 nt de longitud que se acumulan en el nucleolo y su principal función son las modificaciones post-transcripcionales de los rRNAs (Falaleeva & Stamm, 2013), existen dos tipos principales: los snoRNAs caja C/D y snoRNAs caja H/ACA. Los snoRNAs caja H/ACA son los encargados de las pseudouridinciones de los rRNAs de mamíferos (Mcmahon et al., 2015), mientras que los snoRNAs caja C/D se encargan de las modificaciones 2'-O-metilaciones. De esta manera, se observa que los ncRNAs son moléculas centrales en la regulación de la expresión génica.

### 3.8 Long non-coding RNAs (lncRNAs)

Los lncRNAs son moléculas de RNA que miden más de 200nts, generalmente no poseen marcos abiertos de lectura (ORF), sin embargo, se han descrito algunos lncRNAs que poseen ORFs pequeños (sORF) que codifican para péptidos pequeños y funcionales (~30aa; Andrews & Rothnagel, 2014). Los lncRNAs pueden ejercer una miríada de funciones (**Fig.9**) gracias a su

naturaleza de molécula de RNA, ya que les permite formar complejas estructuras secundarias; lo que va a determinar su estabilidad, controlar su vida media y mediar la interacción con otros jugadores moleculares (i.e. ácidos nucleicos y proteínas; Jarroux et al., 2017).

Al igual que los mRNAs, los lncRNAs son transcritos por la Pol II, y, pueden o no tener modificaciones post-transcripcionales (i.e. 3'-Poly A y 5'Cap). Para la transcripción de los lncRNAs, se requieren factores de transcripción (FT) canónicos que participen con la Pol (e.g. Pre-Initiation Complex); de la misma forma, se requiere la intervención de los complejos Mediador, de Elongación, y FT específicos para cada gen (Jarroux et al., 2017).



- **Figura 9: Mecanismos de regulación de la expresión genética de los lncRNAs.** A) Guía para complejos remodeladores de la cromatina, B) Señuelo de diferentes jugadores moleculares (e.g. miRNAs y factores transcripcionales), C) Andamio de complejos RNP, interactuando directamente con el DNA o mediante interacciones proteína-proteína (Modificado de (Dong et al., 2018).

La transcripción de los promotores de los genes de lncRNAs se regulan de forma diferente a los promotores de genes codificantes para proteína (PCG, por sus siglas en inglés) debido a que tienen composiciones distintas (Alam et al., 2014). Sin embargo, los genes de lncRNAs son similares a los genes de PCG, debido a que ambos son multiexónicos, sin embargo, los

genes de lncRNAs generalmente tienen menos exones y éstos son un poco más largos; además de que ambos poseen señales de *splicing* similares (i.e. ambos generan isoformas diferentes; Jarroux et al., 2017).

La vida media de los transcritos de lncRNAs varía mucho dependiendo de varios factores. En los ratones, este dato puede variar desde las 30min hasta las 48h, con una vida media de 4.8h, lo que demuestra que los lncRNAs tienen una mayor inestabilidad comparada con los mRNAs (vida media = 7.7h; Jarroux et al., 2017). Entre los diferentes tipos de lncRNAs, los lncRNAs intrónicos son los más inestables (vida media < 1 h), mientras que los circRNAs son los más estables (vida media = ~24h), debido a que su estructura circular los protege de vías de degradación exonucleótica (Enuka et al., 2016; Jarroux et al., 2017).

A diferencia de muchos de los PCG, los patrones de expresión de los lncRNAs son altamente específicos espaciotemporalmente, para el tejido, linaje y tipo celular (Ward et al., 2015). Existen algunos lncRNAs con patrones de expresión más amplios, cuya expresión es más alta, pero generalmente los niveles de expresión de los lncRNAs suelen ser bajos (C. Jiang et al., 2016). Se ha postulado que estos patrones de expresión tan específicos podrían indicar papeles de regulación de la expresión muy importantes en diferentes procesos biológicos, tanto en condiciones basales como patológicas (Jarroux et al., 2017).

A diferencia de los mRNAs, los lncRNAs pueden tener localizaciones subcelulares muy específicas, existen lncRNAs que son exclusivos de núcleo (e.g. NEAT1), otros exclusivos de citoplasma (e.g. DANCR) y algunos que pueden encontrarse en núcleo o citoplasma dependiendo del contexto celular e.g. HOTAIR (Mas-Ponte et al., 2017). En la literatura se menciona que cambios en las condiciones particulares pueden causar un fenómeno llamado “deslocalización”, que representa un tráfico activo de lncRNAs al sitio celular donde son requeridos (Carlevaro-Fita & Johnson, 2019).

En la literatura se menciona que existen diferentes maneras de clasificar a los lncRNAs, basado en diferentes criterios como son: longitud, características del transcrito, localización respecto a PCG, etc (**Tabla 1**).

<b>Tipo de Clasificación</b>	<b>Nombre</b>	<b>Criterio</b>	<b>Ejemplo</b>
<b>Longitud del transcrito</b>	lncRNA	>200nts	HOTAIR (Rajagopal et al., 2020)
	very lncRNA(vlncRNA/macroRNA)	>10kb	AIRN (H. Cai et al., 2021; Guenzl & Barlow, 2012)
<b>Posición respecto a PCG</b>	Intergénicos	No se sobrelapan con regiones codificantes	XH123 (Cao et al., 2021)
	Antisentido	Se sobrelapan en sentido opuesto con PCG	LDLRAD4-AS1(Mo et al., 2020)
	Bidireccionales	Se sobrelapan en ambos sentidos con PCG	CATSPER1AU (Jiménez-Badillo et al., 2017)
	Intronicos	Se encuentran codificados casi totalmente en un intrón	AC138128.1 (M. Xiao et al., 2019)
	<i>Overlapping sense</i>	Se sobrelapan parcial o totalmente en el sentido del PCG	SYISIL (Jin et al., 2022)
<b>Posición respecto a elementos reguladores del DNA y a loci específicos</b>	Pseudogenes	Presencia en Pseudogenes	HLA-DPB2 (Lyu et al., 2020)
	Transcritos de regiones Ultra-conservadas	Presencia en regiones con un 100% de conservación de la secuencia	LNC-UC.147 (Pereira Zambalde et al., 2021)
	TERRA (Telomeric Repeat-containing RNAs)	Codificados en los telómeros	TERRA (Feretzaki et al., 2020)
	Centroméricos	Transcritos a partir de las secuencias repetidas en los centrómeros	CENPJ (Necsulea et al., 2021)
	PAPAS (promoter and pre-rRNA antisense)	Transcritos de forma antisentido en loci de rRNAs	PAPAS (J. Xiao et al., 2020)
	Enhancer lncRNAs	Transcritos de forma sentido/antisentido en enhancers	HOTAIRM1 (T. Shi et al., 2020)

	Promoter-associated lncRNAs (PALRs)	Transcritos de forma sentido/antisentido en las regiones promotoras (pueden solaparse con el extremo 5' del gen)	Opl16 (L. Jia et al., 2020)
<b>Localización subcelular</b>	Nucleares	Realizan su función dentro del núcleo	LINC00618 (Z. Wang et al., 2021)
	Mitocondriales	Realizan su función dentro de la mitocondria	GAS5 (Sang et al., 2021)
	Citoplasmáticos	Realizan su función dentro del citoplasma	Caren (Sato et al., 2021)
<b>Función</b>	De andamiaje	Facilitan la formación de complejos ribonucleoprotéicos (RNP)	malRNA (Andric et al., 2021)
	Guías	Reclutan complejos RNP a loci específicos de la cromatina	SNHG6 (H. Wang et al., 2021)
	Ribo-activadores	Potencian la actividad de diversas proteínas	CASC7 (van Heesch et al., 2014)
	Señuelos	Ribo-represores de distintas actividades proteicas	DAPALR (C. A. G. Perez et al., 2021)
	Competidores Endógenos (ceRNAs)	Esponja de miRNAs y control transcripcional	RP11-86H7.1 (J. Zhao et al., 2020)
	Precursores	Precursores de RNAs cortos regulatorios	MIR122HG (W. Zheng et al., 2022)

- **Tabla 1: Clasificaciones de lncRNAs.** (Modificada de (Jarroux et al., 2017).

### 3.9 lncRNAs en cáncer

La complementariedad de bases y la formación de estructuras secundarias complejas de los lncRNAs les permite participar en diferentes procesos e.g. la modulación de la estructura de la cromatina, afectando el splicing, activando/inactivando la transcripción de genes, etc. (Statello et al., 2020); de esta manera, actúan como nodos importantes en la red de regulación de la expresión genética.

Debido a la importancia que tienen los lncRNAs como moléculas reguladoras de la expresión genética, cuando sufren alteraciones, éstas tienen un fuerte impacto en el desarrollo de diferentes enfermedades, particularmente cáncer; debido a que cumplen papeles importantes en procesos como el estrés oxidativo, la inflamación, apoptosis y proliferación (Karlsson & Baccarelli, 2016).

Durante la progresión tumoral se altera la expresión de lncRNAs, ya que éstos pueden actuar como oncogenes o como supresores tumorales; un ejemplo de esto es un grupo de lncRNAs que responden bajo la activación de p53 después de que el DNA sufre daño o existe una respuesta oncogénica (Huarte, 2015). Entre estos blancos se encontró lncRNA-PRA, que al ser subexpresado disminuye la tasa de supervivencia de pacientes con cáncer hepático (Lin et al., 2019) y que la expresión exógena del mismo incrementa la apoptosis y disminuye la proliferación celular (Zhou et al., 2016).

Los lncRNAs pueden actuar como oncogenes en diferentes tipos de malignidades; sobre todo actuando bajo el control de MYC. Uno de ellos es PCAT1 (uno de los primeros lncRNAs descritos con potencial oncogénico en cáncer de próstata), está asociada a niveles incrementados de proliferación celular, e inhibe la reparación de daño de doble cadena de DNA mediante la inhibición de BRCA2 (Prensner et al., 2014).

En la literatura se reporta que existen lncRNAs alterados en cáncer que se encuentran codificados dentro de regiones genómicas afectadas con SCNAs, y que estos cambios en la dosis génica están directamente relacionados con la progresión tumoral (Huarte, 2015). Ejemplos de estas alteraciones se ven representadas por el gen FALEC, que se encuentra amplificado en tumores endometriales, donde favorece la proliferación celular y la activación del ciclo celular (Zheng et al., 2019).

### **3.10 Red de competencia endógena de RNAs (ceRNet)**

Los miRNAs son RNAs de 19-25 nucleótidos que pueden regular de forma negativa a los genes uniéndose al 3'UTR de su mensajero (Bartel, 2018). La mayoría de las secuencias maduras de miRNAs se encuentran dentro de intrones o exones de otros ncRNAs, e inclusive dentro de intrones de pre-mRNAs (Kalla et al., 2015).

Al igual que los mRNAs y los lncRNAs, los miRNAs son transcritos por la RNAPol II (**Fig. 10**) en forma de pri-miRNA. Dentro del núcleo los pri-miRNAs son cortados para formar una estructura de asa y tallo; en este estado se les conoce como pre-miRNAs. Los pre-miRNAs, son exportados al citoplasma donde DICER corta la estructura de asa en dos RNAs pequeños de doble hebra (dsRNAs). Estos duplex son cargados a la proteína Argonauta (Ago), permitiendo la formación del complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC; Lin & Gregory, 2015).

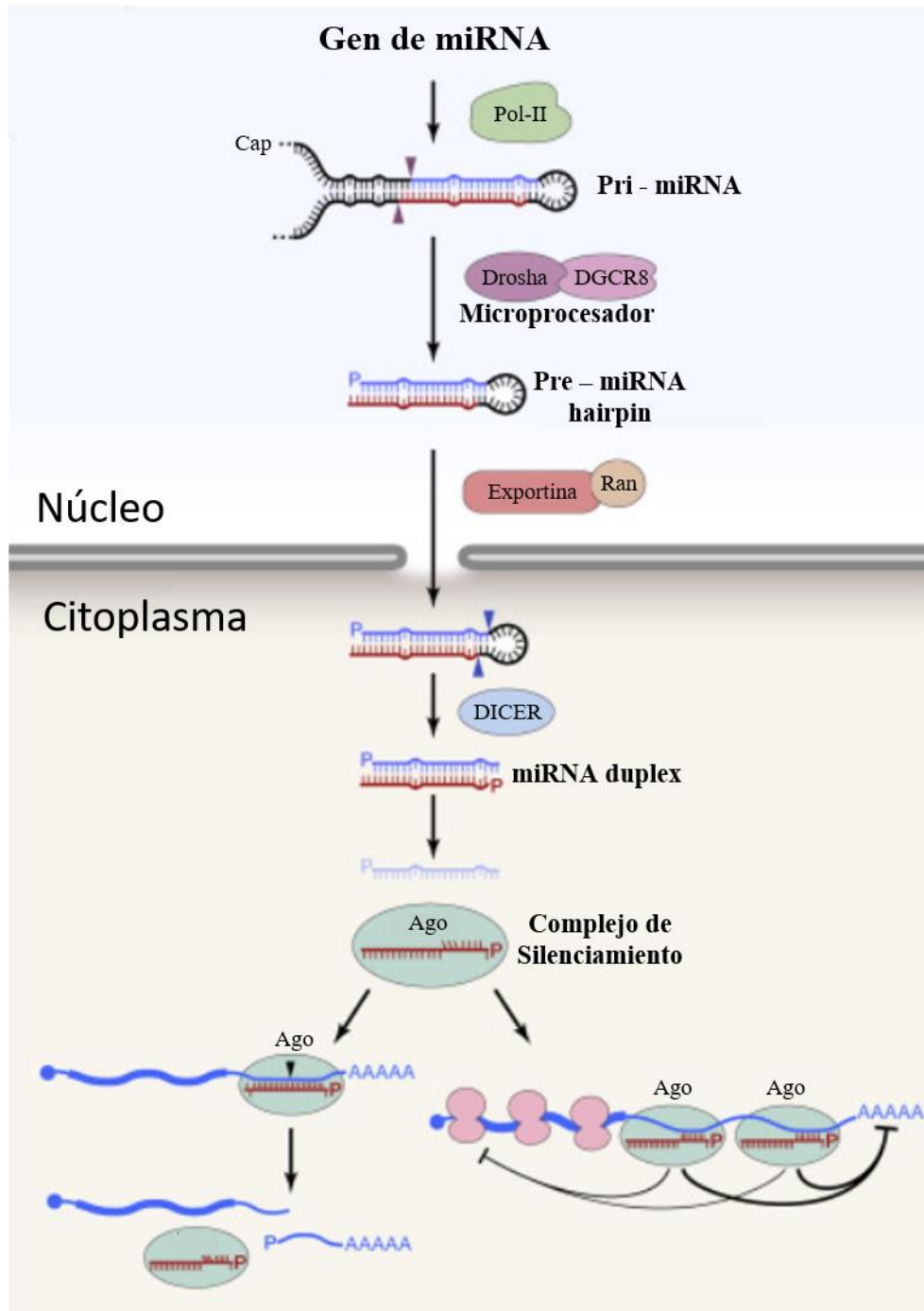
Una vez en el complejo de degradación, estos miRNAs interactúan con su mRNA blanco mediante una secuencia de 2-8 nucleótidos en la hebra guía llamada “secuencia semilla”, la secuencia semilla interactúa con alta afinidad con una secuencia en el extremo 3' del blanco. Esta secuencia recibe el nombre de Elementos de Respuesta a miRNA (MRE). Se ha descrito que esta interacción permite variaciones estructurales que generan un apareamiento imperfecto entre el miRNA y el blanco, por lo que un solo miRNA puede regular a múltiples blancos que compartan el mismo MRE (Inoue & Inazawa, 2021).

En el humano, alrededor de un tercio de los genes codificantes para proteína son regulados por miRNAs (Saliminejad et al., 2019), participando en diferentes procesos biológicos como desarrollo embrionario, diferenciación celular, metabolismo, y en procesos oncogénicos como invasión, migración y apoptosis (Shi et al., 2021).

En la literatura se ha reportado que todos los ncRNAs que posean MRE son capaces de interactuar y regularse mutuamente, mediante la competencia por miRNAs compartidos, fenómeno que recibe el nombre de redes endógenas de competencia de RNAs o *ceRNA networks* (ceRNet; Tay et al., 2014). Se ha descrito que los blancos de interacción afectan tanto la disponibilidad como la actividad de los miRNAs, ya que algunos los degradan y otros solamente los secuestran impidiendo que interactúen con su secuencia blanco (Qu et al., 2015).

Cuando varios transcritos compiten por el mismo miRNA, los cambios de expresión que ocurran sobre uno de estos podrían disminuir la regulación negativa sobre los demás, generando una regulación indirecta de la expresión génica (N. Yang et al., 2021).





• **Figura 10: Biogénesis de miRNAs.** Se aprecian el proceso de biogénesis y maduración de los miRNAs modificado de Bartel, 2018.

Se ha reportado que las ceRNAs pueden ser rRNAs, tRNAs, mRNAs y particularmente lncRNAs (incluyendo pseudogenes y circRNAs; Qu et al., 2015). Debido a la importancia de los lncRNAs como reguladores de la expresión genética, existen reportes sobre como las alteraciones a lncRNAs pueden conducir la tumorigénesis. En cáncer de mama se han identificado ceRNAs de genes expresados aberrantemente (Tuersong et al., 2019), y por subtipo

tumoral (Jia et al., 2020), en ambos casos con una relación clara con la supervivencia de los pacientes. Otros autores reportan que una de estas redes regula procesos biológicos asociados a la membrana y la matriz extracelular, así como varias vías asociadas a BRCA (PI3K-AKT, MAPK, vía de señalización del estrógeno, etc; Yin et al., 2020). En cáncer de pulmón, se ha reportado que estas redes pueden participar en procesos como la replicación del DNA, progresión del ciclo celular y la vía de señalización de p53, así como potenciales biomarcadores (i.e. SYNPR-AS1; Wu et al., 2020a), otros autores reportan que estas redes también pueden participar en procesos como la división celular, la matriz extracelular y la morfogénesis del epitelio (Wang et al., 2020).

Para CCR se han reportado múltiples ejes de interacción lncRNA-miRNA-mRNA asociados a la progresión o el fenotipo tumoral; regulando proliferación (Hou et al., 2020; Li et al., 2021), autofagia (C. He et al., 2021), e incluso invasión y migración (Lin et al., 2022; Sha et al., 2019). De la misma forma, se han construido redes conformadas por múltiples ejes, cercanamente relacionadas con vías tumoral como p53, genes asociados a la progresión tumoral como CCNB1, VEGFA, DDIT4, etc. (Yuan et al., 2019). De la misma forma, se ha identificado que estas redes pueden estar participando en procesos como la angiogénesis, matriz extracelular, metabolismo de proteoglicanos, características clínico-patológicas del tumor y con diferentes poblaciones celulares del sistema inmune (e.g. neutrófilos, células B plasmáticas, monocitos, etc.; (Chen et al., 2021), e inclusive como potenciales biomarcadores (Guo et al., 2020). Sin embargo, los reportes en la literatura se han enfocado en ejes independientes o solo en redes formadas por genes expresados diferencialmente; hasta el momento no se ha reportado el efecto que tienen estos los lncRNAs asociados a SCNAs en CCR.

Para conocer el posible papel de regulación de la expresión que cumplen estos lncRNAs, se propone la construcción de una ceRNet, regulada por lncRNAs asociados a SCNAs en muestras de pacientes con CCR y el efecto que tienen en la adquisición del fenotipo tumoral, así como su posible relevancia clínica.

## 4. Hipótesis

- Un grupo de lncRNAs codificados en regiones genómicas con alteraciones al número de copias participa activamente en la adquisición del fenotipo tumoral en CCR.

## 5. Objetivos

- **Objetivo General:** Evaluar el papel de los lncRNAs codificados en regiones genómicas con alteraciones al número de copias que participen en la adquisición del fenotipo tumoral en cáncer colorrectal.
- **Objetivos Particulares:**
  1. Identificar lncRNAs expresados en CCR a partir de la base de datos de TCGA.
  2. Determinar los niveles de expresión diferencial de lncRNAs en CCR respecto a las muestras sanas.
  3. Ubicar regiones genómicas con alteraciones al número de copias en CCR.
  4. Mapear lncRNAs expresados diferencialmente a las regiones genómicas con alteraciones al número de copias.
  5. Identificar potenciales interacciones de los lncRNAs seleccionados con procesos celulares asociadas a CCR.

## 6. Metodología

Con el fin de conocer los lncRNAs expresados diferencialmente como resultado de estar codificados en regiones genómicas con alteraciones al número de copias, como efecto de la progresión tumoral en muestras de pacientes con cáncer colorrectal (CCR). Se propuso una aproximación bioinformática que aprovecha diferentes herramientas asociadas al lenguaje de programación R (versión 4.1.1) y el ecosistema de Bioconductor (versión 3.13; Gentleman et al., 2004) para la minería de datos.

### 6.1 RNA-Seq

Con el objetivo de identificar cuáles son los lncRNAs expresados diferencialmente, se utilizó el paquete de datos TCGAbiolinks (Colaprico et al., 2016), el cual permite acceder al portal de The Cancer Genome Atlas (TCGA; Weinstein et al., 2013) y descargar los datos de expresión transcripcional en bruto de las 326 muestras (285 muestras de tumor primario y 41 muestras sanas) que contiene el proyecto de Adenocarcinoma Colorrectal (Muzny et al., 2012). Para descargar los datos, se generó una búsqueda para descargar los archivos de experimentos de RNA-Seq.

Los datos que se descendieron de la plataforma se encuentran previamente procesados. Son datos de secuenciación de exoma obtenidos con la plataforma Illumina Cluster Station and Genome Analyzer. El genoma que se utilizó para alinear las secuencias fue el genoma hg19 (versión diciembre de 2009; <http://genome.ucsc.edu/>). Se conservaron las secuencias alineadas a cromosomas canónicos humanos (chr1:22, X y Y); los archivos contenían 73,671 transcritos (20,532 genes codificantes), del total de transcritos, 67,434 se anotaron con un identificador único de Entrez/LocusLink.

Los autores procesaron las lecturas en bruto con la herramienta “illumina2srf” del Sequence Read Toolkit (<http://sourceforge.net/projects/sequenceread/>) para transformar el formato del comerciante a formato estándar (*sequence read format*). Utilizaron la herramienta “srf2fastq” del paquete Staden (<http://staden.sourceforge.net/>) para obtener archivos fastq y simultáneamente eliminar las lecturas de mala calidad y quitar las secuencias adaptadoras.

Posteriormente los autores alinearon las secuencias con el algoritmo BWA (<http://biobwa.sourceforge.net/>), el archivo SAM resultante fue transformado a formato BAM

con la herramienta Picard (<http://picard.sourceforge.net>). Posteriormente se realizaron cuantificaciones a nivel de transcrito, de gen, de exón y de sitio de *splicing*. Se evaluó la cobertura del genoma y diferentes parámetros QC.

Los archivos utilizados contienen información sobre todos los transcritos detectados en las muestras tanto de muestras sanas, como de muestras tumorales. La expresión de los transcritos se presenta en una matriz de conteos en bruto (*raw counts*; número de veces que se detectó el transcrito de forma no ambigua en cada muestra) como la que se observa en la **Tabla 2**.

	Muestra sana 1	Muestra tumoral 1
Transcrito 1	1	0
Transcrito 2	0	1
Transcrito 3	0	2

- **Tabla 2: Ejemplo de Matriz de raw counts.**

## 6.2 BiomaRt

Una vez descargadas las matrices de expresión, el siguiente paso fue filtrar los lncRNAs. Para esto, se utilizó el paquete BiomaRt versión 2.48.3 (Durinck et al., 2005) el cual permite cotejar con la base de datos del ENSEMBL utilizando múltiples parámetros. Se solicitó el identificador del ENSEMBL, el biotipo, cromosoma en el que se encuentra codificado, posición inicial y final.

Debido a que la matriz de expresión descargada contiene todos los transcritos detectados, se utilizaron los identificadores y los biotipos “*lncRNA*”, “*polymorphic pseudogene*”, “*transcribed processed pseudogene*”, “*transcribed unprocessed pseudogene*”, “*unprocessed pseudogene*”, “*processed pseudogene*”, “*transcribed unitary pseudogene*” y “*unitary pseudogene*” para filtrar solo los transcritos que sean lncRNAs. Con los identificadores del ENSEMBL se realizó un sub-conjunto de la matriz original (generando una matriz de expresión solo de los lncRNAs) y se preparó para el análisis de la expresión diferencial.

### 6.3 Expresión diferencial

Para poder evaluar cuales de los transcritos presentan expresión diferencial entre el conjunto de muestras tumorales respecto al conjunto de muestras sanas; se cargó la matriz de conteos al paquete DESeq2 (Love et al., 2014). Este paquete normaliza los conteos en bruto y los transforma a una escala logarítmica (*Log2 Fold Change*; LFC) para observar el cambio proporcional de la expresión de cada gen. Posteriormente calcula cuales tienen una expresión diferencial estadísticamente significativa generando una distribución binomial negativa y realizando una prueba de Wald. Además de la matriz, se alimenta al programa información obtenida a partir de los metadatos, es decir, cuales muestras son sanas y cuáles son tumorales.

Los transcritos con expresión diferencial significativa se eligieron con base en dos parámetros: 1) el LFC,  $> 1$  como un incremento significativo en la expresión, por el contrario, si el valor del LFC  $< -1$  se tomó como una disminución significativa en la expresión y 2) el valor de  $p$  ajustado ( $p_{adj}$ )  $< 0.05$  como una diferencia estadísticamente significativa.

### 6.4 Agrupamiento Jerárquico

Para graficar los patrones de expresión diferencial entre las muestras tumorales y las muestras sanas; se normalizó la expresión en bruto de los lncRNAs mediante la función VST (Variance Stabilizing Transformation) del paquete DESeq2; que permite generar un conjunto de datos homocedástico (i.e. varianzas independientes e iguales). Posteriormente centralizamos los valores sobre la media, utilizando un Zscore ( $z = (x - \mu) / \sigma$ ), medida realizada sobre el número de desviaciones estándar que se aleja la muestra de la media.

Una vez normalizada y centralizada, la matriz de conteos se cargó al paquete Complex Heatmap versión 2.8.0 (Gu et al., 2016), junto con los metadatos asociados a la muestra (tipo de muestra y estadio del tumor). Para observar con mayor claridad los patrones de expresión diferencial en las muestras, se utilizó un método de agrupamiento computacional no supervisado llamado *k-means*, en el cual se busca de forma automática la formación de clústeres en los que la suma de los mínimos cuadrados intra-clúster sea la menor posible y la distancia inter-clúster la máxima posible.

Con el fin de observar si existían patrones de expresión diferencial por cromosoma, se repitió el procedimiento descrito anteriormente; y los genes fueron organizados por la posición en el cromosoma donde se encuentran codificados.

## 6.5 SCNAs

Para conocer cuáles de estos lncRNAs tienen un cambio en la expresión como resultado de los eventos de alteración al número de copias (SCNAs), se obtuvieron los datos de secuenciación genómica con la plataforma Affymetrix v6 del repositorio de TCGA, utilizando TCGAbiolinks. Estos datos fueron cargados en bruto a la herramienta libre disponible en internet CNApp (Franch-Expósito et al., 2020), la cual arroja las regiones que tienen ganancia o pérdida y la frecuencia con la que se ven alteradas en el set de muestras. De la misma forma, la herramienta dio como resultado una lista de genes que se encuentran codificados en dichas regiones.

Para obtener solo los lncRNAs, se utilizó la herramienta BiomaRt como en el procedimiento anterior. Se utilizaron dos filtros para identificar cuáles lncRNAs asociados a SCNAs tienen una expresión diferencial significativa: 1) que el gen se encontrara codificado en una región con alterada con frecuencia mayor al 10% (Truty et al., 2018), y 2) que tuviera un LFC > 1 para una amplificación significativa y un LFC < -1, para una disminución significativa, como se mencionó anteriormente.

## 6.6 Interacciones DElncRNAs-DEmiRNAs

Para conocer el posible papel de regulación de la expresión que cumplen estos lncRNAs, se construyó una ceRNet, en la cual los lncRNAs asociados a SCNAs expresados diferencialmente compiten por un número limitado de miRNAs blanco; generando una regulación negativa indirecta sobre la expresión de los mRNAs. Con tal fin se obtuvieron los mRNAs y los miRNAs expresados diferencialmente en CCR a partir de experimentos de RNA-seq como se explicó anteriormente.

Una vez obtenidos los mRNAs y los miRNAs expresados diferencialmente, se descargaron las interacciones lncRNA – miRNA de la base de datos MiRCode versión Junio 2012 (Jeggari et al., 2012). La cual utiliza dos principios para predecir sitios de interacción con miRNAs a lo largo del transcriptoma de lncRNAs del GENCODE; el primero de ellos es la complementariedad de la secuencia semilla. El segundo principio es la conservación evolutiva, con la lógica que una secuencia conservada a través de diferentes *taxa* podría tener restricciones evolutivas debido a su importancia biológica. Para probar la conservación evolutiva realiza un

análisis Multiz (alineamiento parcial de secuencias genómicas de diferentes especies con la secuencia del humano como referencia); haciendo énfasis en las regiones 3'-UTR, CDS, y 5'-UTR.

Se descargaron los archivos para buscar todas las interacciones que tienen los lncRNAs asociados a SCNAs expresados diferencialmente con los miRNAs. Una vez obtenida la lista completa, se cotejó con la lista de miRNAs expresados diferencialmente obtenidos anteriormente; de esta forma se obtuvieron las interacciones DE-lncRNA – DE-miRNA.

### 6.7 Interacciones DE-miRNA-DEmRNA

Una vez identificados los DE-miRNAs que interactúan con los DE-lncRNAs, se descargaron las interacciones predichas que tienen los DE-miRNAs con sus mRNAs blanco. Esto se realizó en tres bases de datos: 1) **MiRTarBase (versión 9.0)**: base de datos curada manualmente que contiene interacciones miRNA-mRNA validadas experimentalmente (Huang et al., 2019); 2) **MiRDB (versión 6.0)**: herramienta que predice las interacciones con base en complementariedad de bases, expresión diferencial del mensajero, información disponible en bases de datos de CLIP, conservación evolutiva de la secuencia semilla y algoritmos de machine learning; Chen & Wang, 2020); y 3) **TargetScan (versión Human 8.0)**: predice las interacciones mediante el uso de ciertos parámetros contextuales (context++) que toma en cuenta entre ellos la presencia de regiones con complementariedad de bases a las regiones semillas de forma perfecta, de la misma forma si se presentan apareamientos imperfectos se complementa con apareamientos en la región 3', y el uso de herramientas de *Deep learning* para predecir la accesibilidad y estabilidad del sitio semilla de interacción en miRNA-mRNA-Argonata (McGeary et al., 2019).

Se utilizó el paquete VennDiagram versión 1.7.3 (Chen & Boutros, 2011) de R, para seleccionar las entradas en común entre las tres bases de datos. Una vez obtenidas las entradas en común, se cotejó la lista con los mRNAs expresados diferencialmente para obtener finalmente la lista de interacciones DE-lncRNA-DE-miRNA-DE-mRNA.



## **6.8 Correlación de Pearson lncRNA-mRNA**

Para validar estadísticamente los ejes DElncRNA-DEmiRNA-DEmRNA, se realizaron correlaciones de Pearson entre la expresión de los DElncRNAs y los DEmRNAs; siguiendo la lógica que existe una relación monotónica entre la expresión del lncRNA y la expresión del mRNA.

De la matriz de conteos en bruto global, se realizó un subconjunto que contuviera las entradas para los lncRNAs y los mRNAs identificados como se mencionó anteriormente. La matriz resultante fue normalizada con la función VST del paquete DESeq2; posteriormente se transpuso la matriz para tener cada gene como una columna independiente.

Se utilizó el paquete Hmisc versión 4.7-2 (Harrel & Dupont, 2021) para realizar en un solo paso correlaciones de Pearson entre cada una de las columnas, posteriormente se filtraron las correlaciones de los lncRNAs-mRNAs. El paquete genera dos matrices, una con los coeficientes de correlación ( $r$ ) y otra con los p-values ( $p$ ). Se utilizó una función para obtener en un nuevo archivo en una columna el nombre de la correlación, el  $r$  y el  $p$  (STHDA, 2021).

Una vez obtenida la matriz, se filtraron solamente las correlaciones significativas ( $p < 0.05$ ) y que tuvieran un coeficiente de correlación positivo ( $r > 0$ ), debido a que se asume que existe una relación monotónica entre ambos (i.e. lncRNA y mRNA). Los ejes que cumplieron con estas condiciones fueron seleccionados para los análisis subsecuentes.

## **6.9 ceRNA network**

Una vez obtenidos todos los ejes DElncRNA-DEmiRNA-DEmRNA, con correlaciones significativas, se cargó la matriz de interacciones al software Cytoscape v.3.9.1 (Shannon et al., 2003) para visualizar la red.

## **6.10 Gene Ontology y KEGG**

Para conocer el efecto que tienen los lncRNAs sobre el fenotipo tumoral en CCR, se realizó un análisis de las vías metabólicas enriquecidas en CCR en las cuales participan los mRNAs blanco de la ceRNet. Para esto, se utilizó el paquete pathfindR versión 1.6.4 (Ulgen et al., 2019) que realiza búsquedas de procesos biológicos enriquecidos mediante búsqueda activa de subredes.

Se alimentó al paquete un archivo que contenía tres columnas, 1) nombre del gen, 2) LFC, y 3) p-value (todos obtenidos del análisis de expresión diferencial con DESeq2). Con esa lista, se realizó un análisis con la base de datos Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG; (Kanehisa & Goto, 2000) para identificar vías de señalización enriquecidas, y de la misma forma, un análisis con la base de datos GO para conocer los procesos biológicos enriquecidos por la ceRNet.

## 6.11 Curvas de Supervivencia

Para evaluar la posible relevancia clínica de los lncRNAs asociados a SCNAs, se realizaron curvas de supervivencia con todos los lncRNAs asociados a la ceRNET. Primero se realizó un subconjunto que contenía solo a las muestras tumorales, posteriormente se clasificaron los pacientes con base en la expresión de los largos en dos grupos “baja”, y “alta” (si el valor de la expresión es menor a su media se consideró baja, por el contrario, mayor a la media se agrupó como alta).

La matriz con esa información se cargó al paquete survival versión 3.4-0 (Therneau, 2022), para la significancia estadística se realizaron pruebas log-rank, de la misma forma se corrieron regresiones de Cox para evaluar el riesgo proporcional de la expresión de los lncRNAs. Se analizó también las curvas con variables de interés clínico (Sexo, Raza y Estadio tumoral), en cuyo caso para evaluar la significancia estadística se realizaron pruebas log-rank entre todas las posibles curvas ( $p_{adj} < 0.05$ ).

Posteriormente se utilizó el paquete pROC versión 1.18.0 (Robin et al., 2011) para graficar las curvas ROC (Receiving Operator Characteristics) y calcular la sensibilidad y especificidad de las predicciones representadas en la relación Verdaderos Positivos/Falsos Positivos, y una regresión logística para calcular el área bajo la curva (AUC). De la misma forma, se utilizó el criterio de Hosmer y colaboradores (2013) para la evaluación de la eficacia de discriminación del modelo.

De esta manera, se planteó una metodología bioinformática que permitió analizar la importancia de los lncRNAs como reguladores de la expresión genética y el impacto que tiene su expresión diferencial en el fenotipo tumoral de pacientes con CCR.

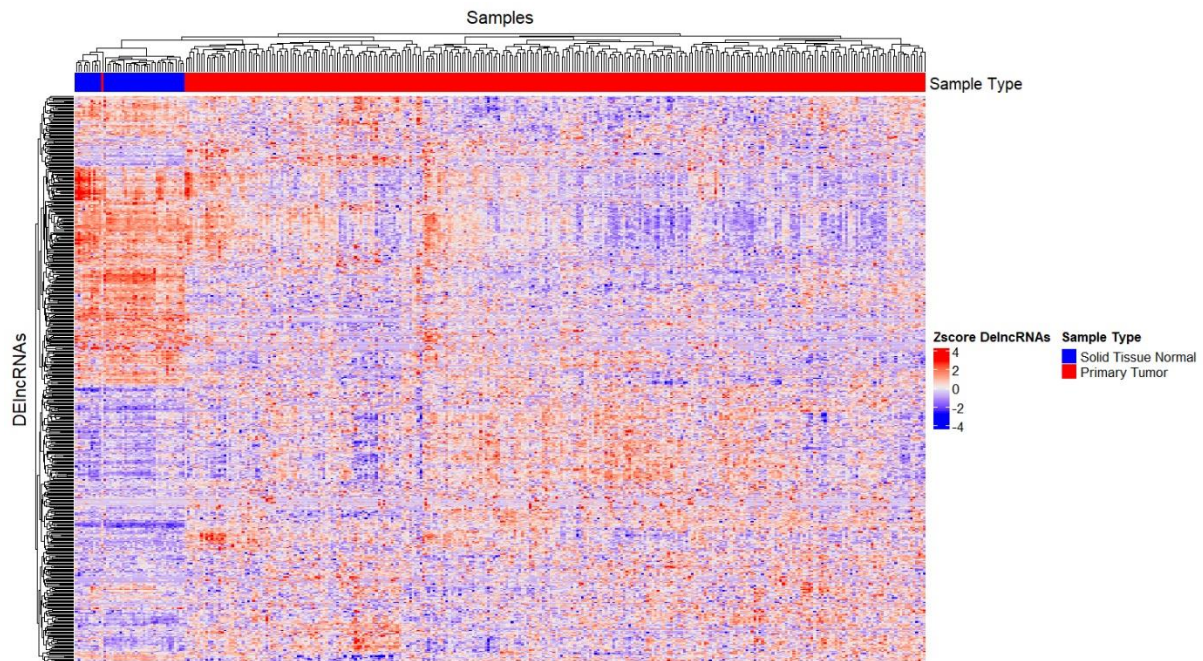
## 7. Resultados

En el presente trabajo se propuso identificar los lncRNAs asociados a regiones genómicas con alteraciones al número de copias (SCNAs, por sus siglas en inglés) en CCR, así como el papel que tienen sobre la regulación de la expresión genética y el fenotipo tumoral. Se planteó una metodología que aprovecha herramientas bioinformáticas asociadas al lenguaje de programación R y el ambiente de Bioconductor para la evaluación de la expresión diferencial, predicción de interacciones y de funciones biológicas afectadas.

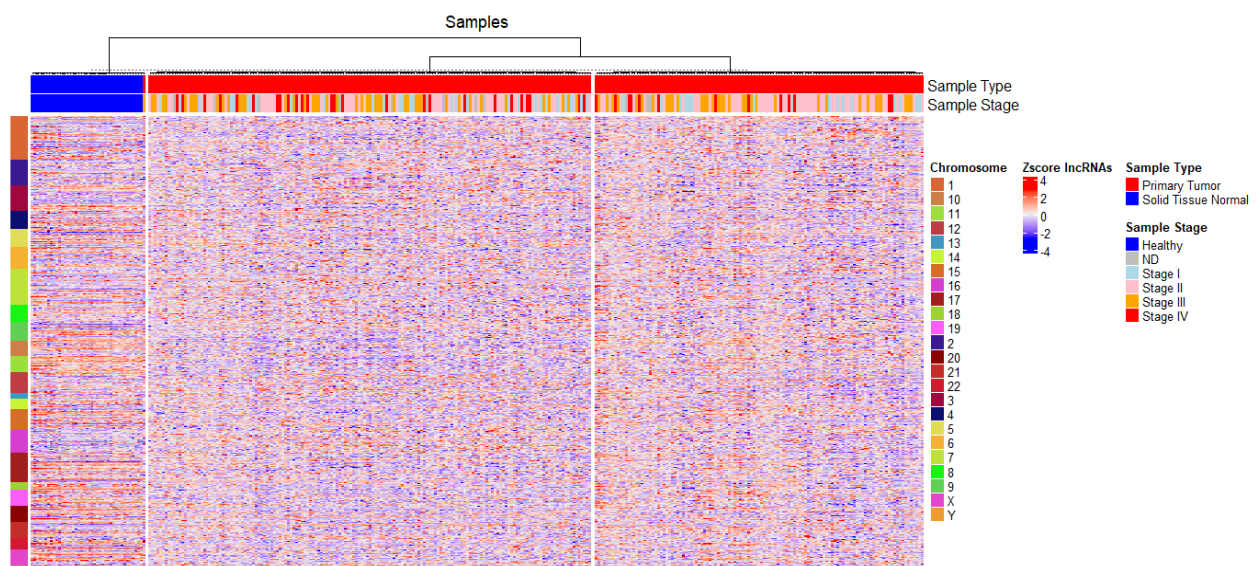
### 7.1 lncRNAs Expresados Diferencialmente

Con el objetivo de identificar los lncRNAs expresados diferencialmente en CCR, se descargaron archivos de expresión de RNA-seq del proyecto de Adenocarcinoma colorrectal, del repositorio de The Cancer Genome Atlas (TCGA). Utilizando el paquete DESeq2, se identificaron 268 lncRNAs expresados diferencialmente (DELncRNAs; **Fig.11**), 135 sobre-expresados ( $LFC > 1$ ;  $padj < 0.05$ ) y 133 sub-expresados ( $LFC < -1$ ;  $padj < 0.05$ ). Se observa un patrón de expresión diferencial entre las muestras sanas y las tumorales, y que este patrón es independiente del estadio tumoral.

Para observar si los patrones de expresión diferencial entre las muestras sanas y las tumorales se separaban por cromosoma, se realizó un agrupamiento por *k-means* con el paquete ComplexHeatmap; y los lncRNAs se organizaron de acuerdo con el cromosoma en el que se encuentran codificado (**Fig.12**). Se aprecian patrones de expresión por cromosoma independientes del estadio tumoral.



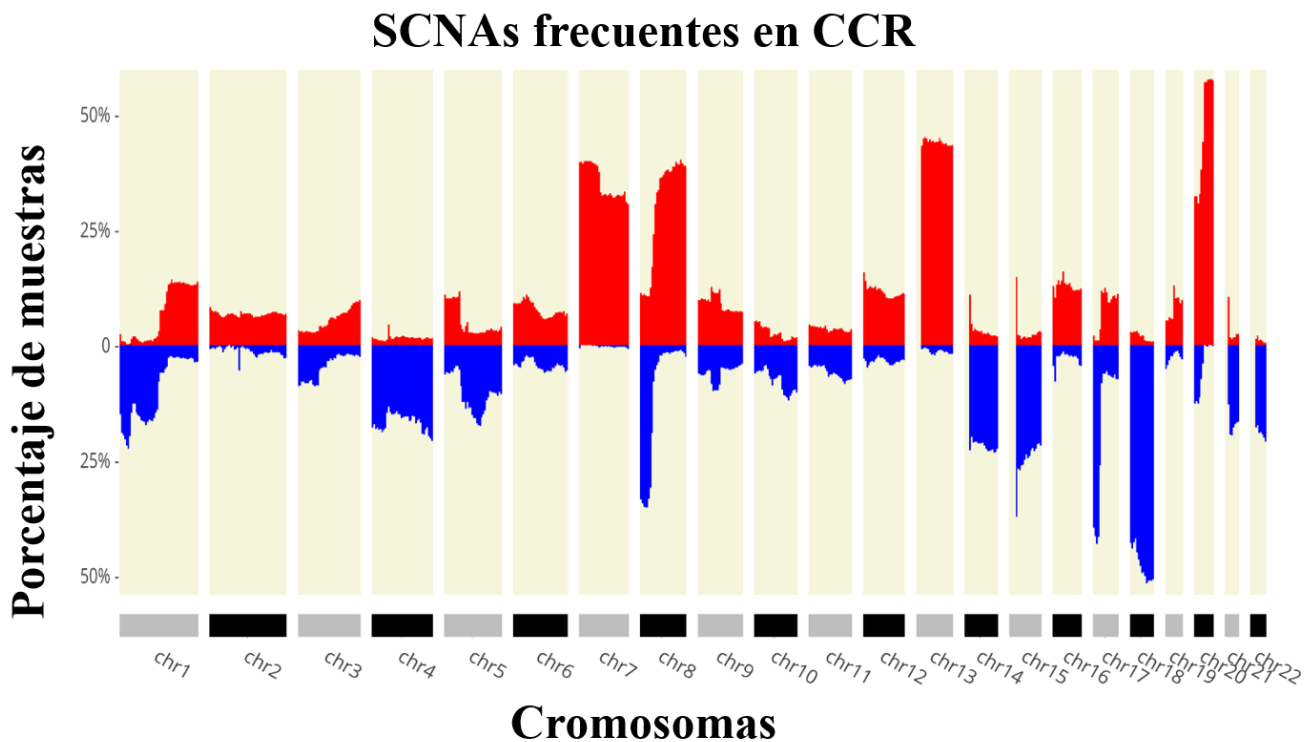
- Figura 11: LncRNAs expresados diferencialmente.** Las muestras fueron agrupadas mediante el método de *K*-means clustering. En la anotación superior se observan en color azul las muestras provenientes de individuos sin cáncer, en color rojo las muestras tumorales. En los valores del Zscore, en rojo se observan los genes que se sobreexpresan, en color azul los que disminuyen su expresión y a mayor la intensidad, más grande es el valor del Zscore ( $p < 0.05$ ).



- Figura 12: LncRNAs expresados diferencialmente por cromosoma.** Las muestras fueron agrupadas por el método de *K*-means clustering. Las muestras fueron agrupadas mediante el método de *K*-means clustering. En la anotación superior se observan en color azul las muestras sanas, en color rojo las muestras tumorales, debajo se observa la anotación de los diferentes estadios tumorales. En la anotación lateral, se observa cada uno de los cromosomas con un color diferente. En los valores del Zscore, en rojo se observan los genes que se sobreexpresan, en color azul los que disminuyen su expresión y a mayor la intensidad, más grande es el valor del Zscore ( $p < 0.05$ ).

## 7.2 lncRNAs asociados a SCNAs

Conociendo el patrón de expresión diferencial de los lncRNAs en CCR, el siguiente paso fue identificar cuáles lncRNAs se alteran como resultado de estar codificados en regiones genómicas con SCNAs. Para esto, se utilizaron datos de secuenciación genómica descargados del repositorio del TCGA, y cargados a la plataforma CNApp. Se obtuvieron las regiones que poseen ganancias o pérdidas, y la frecuencia con la que se presentan las alteraciones en el conjunto de muestras. En la **Fig.13** se puede observar la gráfica de frecuencias de alteraciones; en color rojo se observan amplificaciones y en azul deleciones cromosómicas. Se observan alteraciones a lo largo de los 22 cromosomas con diferentes frecuencias, cabe resaltar que existen alteraciones con una frecuencia >40% como son los cromosomas 7, 8, 13, 17, 18 y 20.

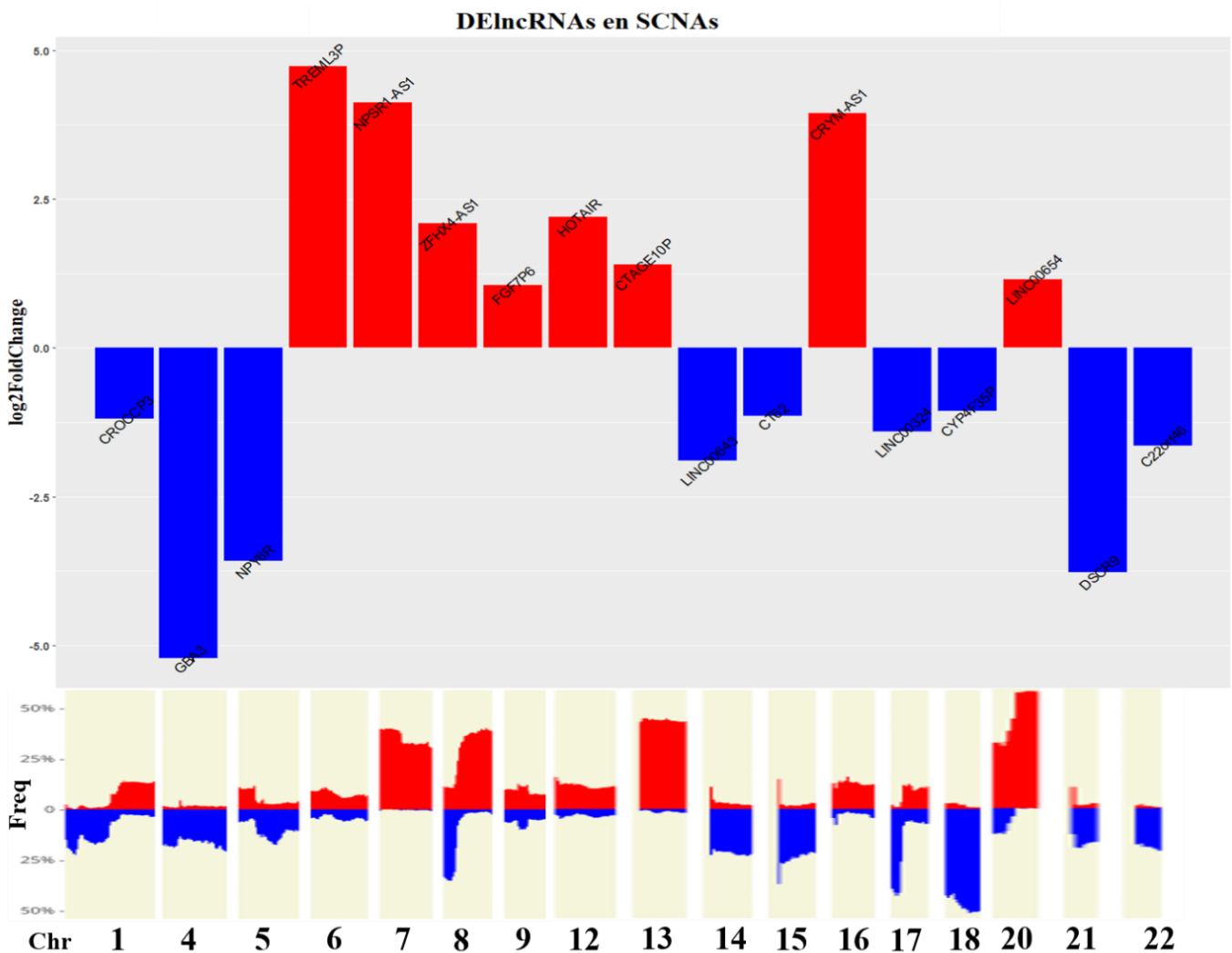


- **Figura 13: Frecuencia de SCNAs en pacientes con CCR.** Se aprecia cada uno de los cromosomas y las regiones que se encuentran amplificadas (en color rojo) y deletadas (en color azul).

Una vez que se identificó el patrón de expresión diferencial, y el de SCNAs en pacientes con CCR, se obtuvo de la misma plataforma los genes codificados en dichas regiones. Se evaluó cuáles DElncRNAs se encontraban en esas regiones (frecuencia de la alteración > 10%). Se identificaron 78 DElncRNAs asociados a SCNAs; en la **Fig.14** se observa la expresión

normalizada obtenida de la herramienta DESeq2 de un lncRNA representativo para cada cromosoma, y en la Tabla 2 (Anexo) puede observar la lista completa de DElncRNAs asociados a SCNAs

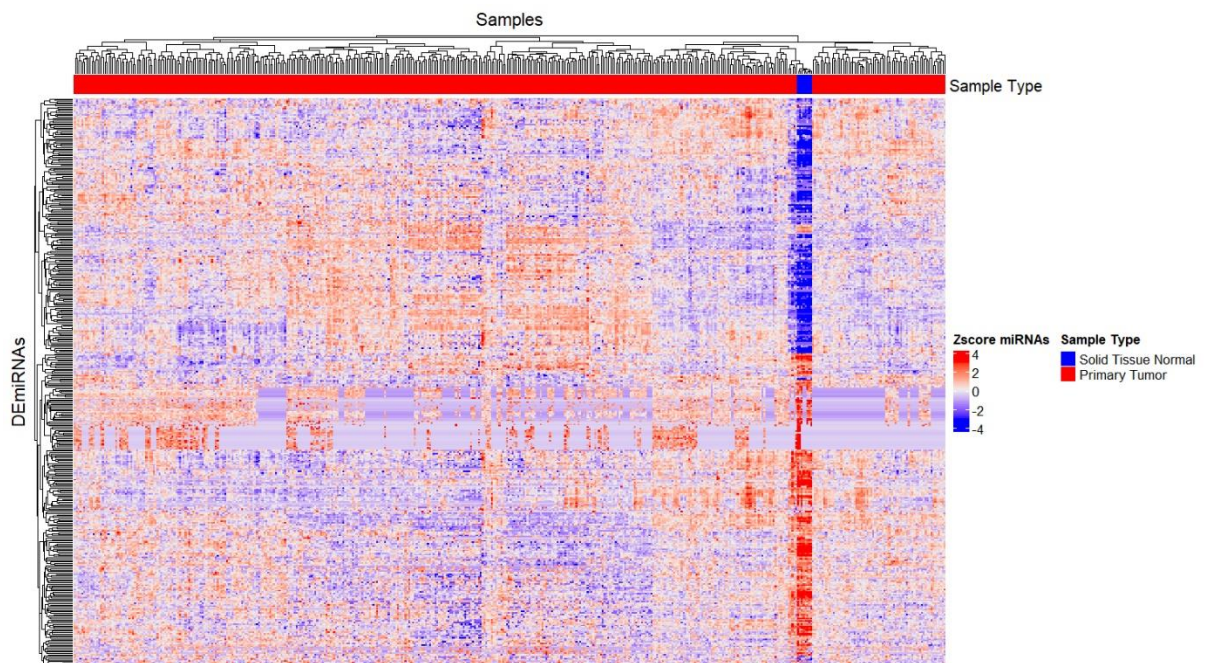
Una vez definidos los lncRNAs asociados a SCNAs el siguiente paso fue analizar el posible papel que tuvieran sobre el fenotipo tumoral de CCR. Para tal fin, se planteó la construcción de una ceRNet. Para esto se obtuvo la expresión diferencial de los miRNAs y los mRNAs en las muestras de pacientes con CCR con la herramienta DESeq2 como se describió previamente.



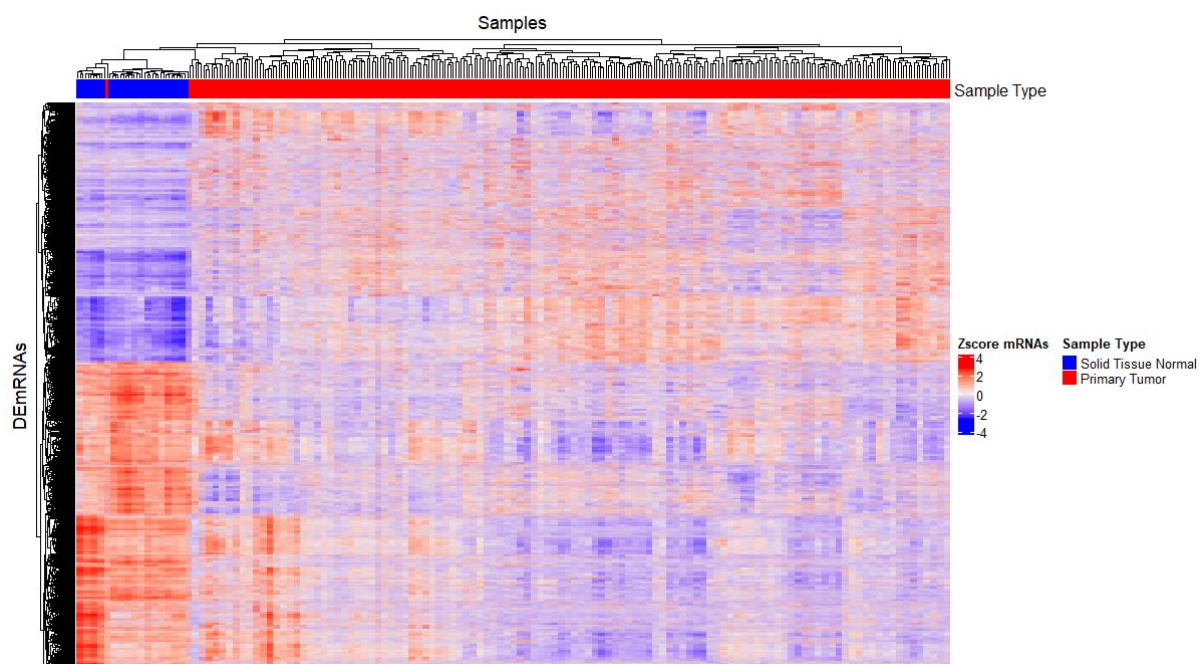
- **Figura 14: LncRNAs expresados asociados a SCNAs.** En color azul se observan los valores en las muestras sanas y en color rojo el valor en las muestras tumorales. Se muestra una imagen representativa por cada cromosoma ( $padj < 0.05$ ).

### 7.3 miRNAs y mRNAs expresados diferencialmente

Se encontraron un total de 410 miRNAs expresados diferencialmente (DEmiRNAs; **Fig.15**) de los cuales 187 se encuentran sobre-expresados ( $LFC > 1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ ) y 223 sub-expresados ( $LFC < -1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ ); se aprecia que existe un patrón de expresión diferencial entre las muestras tumorales y las muestras sanas. De la misma forma, se obtuvieron 5028 mRNAs expresados diferencialmente (DEmRNAs; **Fig.16**), de los cuales 2294 estaban sobre-expresados ( $LFC > 1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ ), y 2734 sub-expresados ( $LFC < -1$ ,  $p_{adj} < 0.05$ ). Se puede observar un patrón de expresión diferencial de los mRNAs entre las muestras sanas y las muestras tumorales.



**Figura 15: MiRNAs expresados diferencialmente.** En la anotación superior se aprecia en color azul las muestras sanas y en color rojo se observan las muestras tumorales. En los valores del Zscore, en rojo se observan los genes que se sobreexpresan, en color azul los que disminuyen su expresión y a mayor la intensidad, más grande es el valor del Zscore. ( $p < 0.05$ ).



- Figura 16: MRNAs expresados diferencialmente.** En la anotación superior se aprecia en color azul las muestras sanas y en color rojo se observan las muestras tumorales. En los valores del Zscore, en rojo se observan los genes que se sobreexpresan, en color azul los que disminuyen su expresión y a mayor la intensidad, más grande es el valor del Zscore. ( $p < 0.05$ ).

#### 7.4 ceRNet

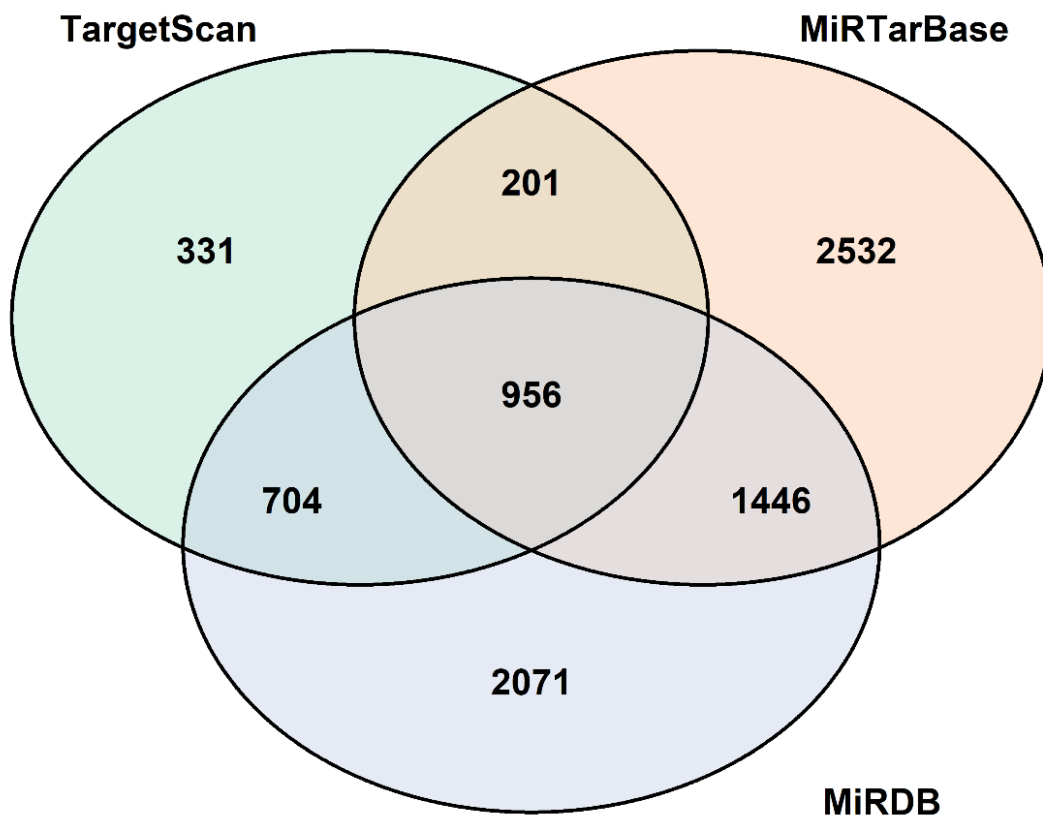
Con el objetivo de conocer cómo podían estar interactuando los DElncRNAs con los DEmiRNAs y a su vez, éstos con los DEmRNAs, se planteó una búsqueda con herramientas de minería de datos en repositorios disponibles en internet; MiRCode para las interacciones lncRNA – miRNA, y tres bases de datos diferentes para las interacciones DEmiRNA – DEmRNA: MiRTarBase, MiRDB y TargetScan.

Para conocer los ejes de interacción, primero se identificaron los DEmiRNAs blancos de DElncRNAs a partir de técnicas de minería de datos en el repositorio MiRCode. Se descargó la totalidad de la base de datos y se cotejaron los miRNA blancos con la lista de DEmiRNAs que se obtuvo previamente; de esta manera, se obtuvieron un total de 3062 interacciones de los DElncRNAs con distintos DEmiRNAs.

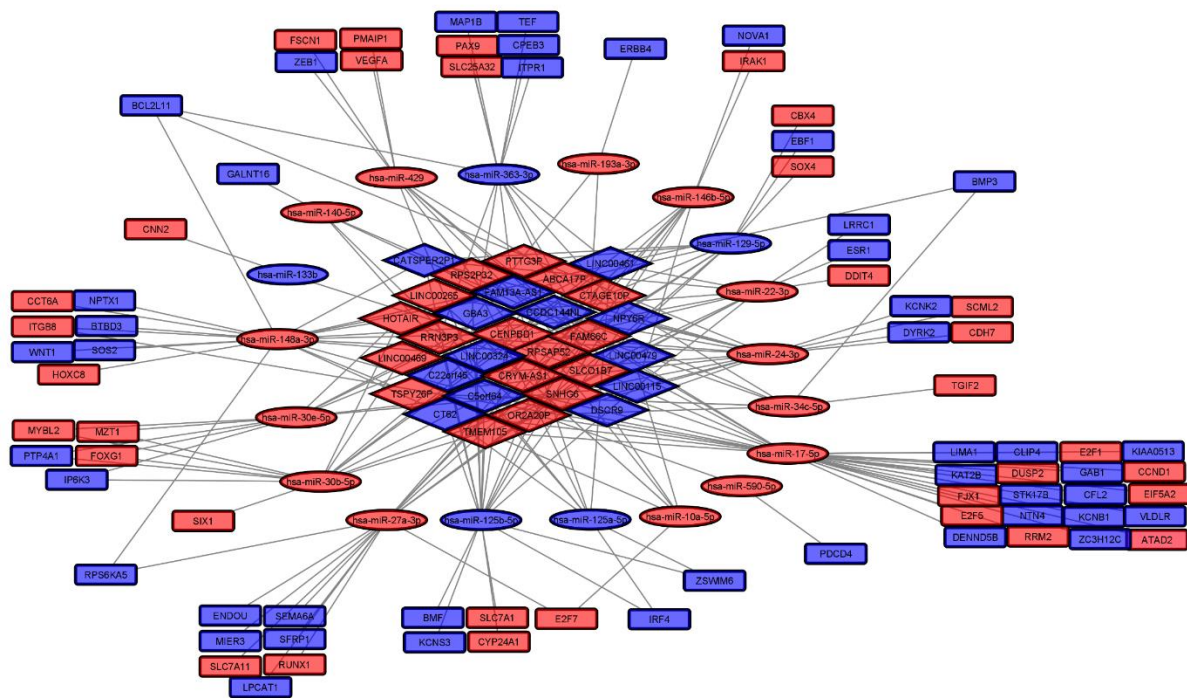
Una vez identificados las interacciones DElncRNA-DEmiRNA, para conocer el efecto que tiene esta interacción sobre la regulación de la expresión genética, se buscaron los blancos putativos de los DEmiRNAs en tres repositorios diferentes 1) TargetScan, 2) MiRDB y 3) MiRTarBase.



Se descargó la totalidad de interacciones para cada base de datos y posteriormente se buscaron las interacciones de los DE miRNAs con todos los blancos registrados; de esta forma se generaron tres listas diferentes (una por repositorio). El siguiente paso fue cotejar estas listas para buscar las interacciones en común y se obtuvieron 956 interacciones DE miRNA-mRNA (**Fig.17**). De la lista de blancos putativos en común (Anexo, tabla 3), se eliminaron aquellos mRNAs que no tuvieran expresión diferencial significativa; de esta manera se obtuvieron 945 interacciones DE lncRNA-DE miRNA-DE mRNA, a esa lista se depuraron entradas repetidas y con la lista de ejes DE lncRNA-DE miRNA-DE mRNA, se construyó la ceRNet (**Fig.18**). Dicha red consta de 33 DE lncRNAs, 19 miRNAs y 76 mRNAs con genes tanto sobre- como sub-expresados.



- **Figura 17: Interacciones miRNA-mRNA comunes entre las bases de datos utilizadas.** Se puede observar que entre las tres bases de datos existen 956 interacciones miRNA-mRNA comunes.



- **Figura 18: Red de Competencia Endógena de RNAs.** Se aprecian 33 lncRNAs, 19 miRNAs y 76 mRNAs que participan en la red. En color azul se observan los transcritos sub-expresados, en rojo aquellos que están sobre-expresados. Los diamantes representan los lncRNAs, los elipses a los miRNAs y los rectángulos a los mRNAs.

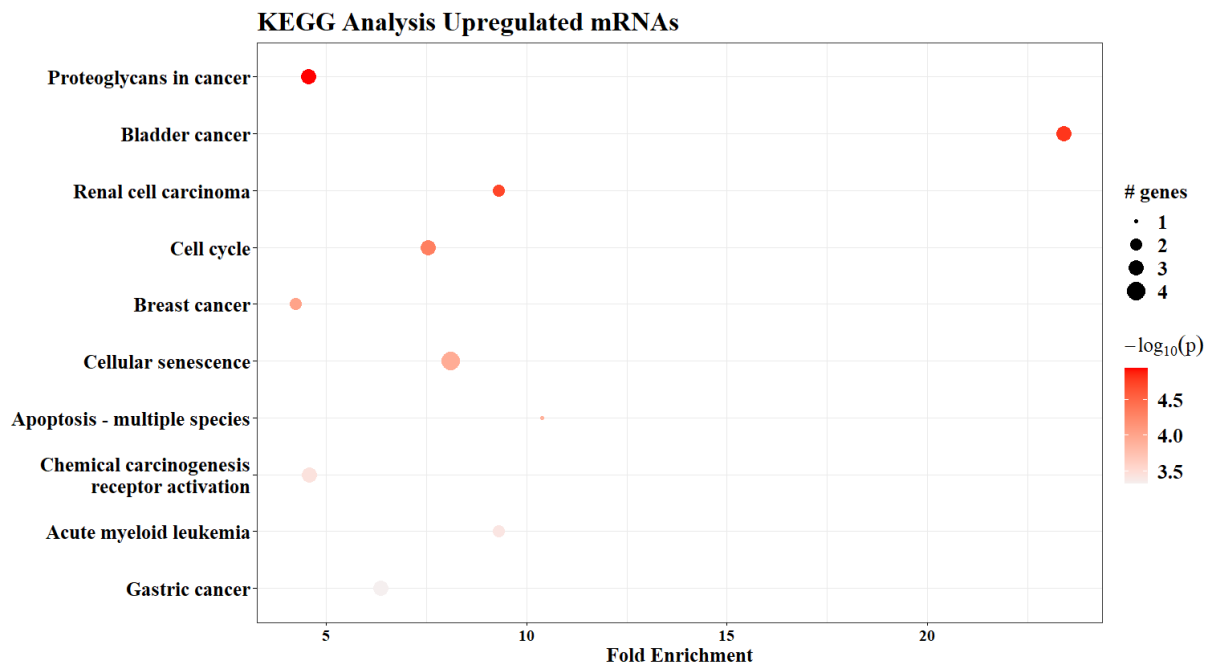
## 7.5 KEGG

Para predecir los posibles roles biológicos que tiene la ceRNet sobre la regulación del fenotipo tumoral, se plantearon análisis de enriquecimiento tanto de vías de señalización (KEGG), como de procesos biológicos (GO). Para esto se alimentó la lista de DEmRNAs junto con su LFC y valor de padj al paquete PathfindR. Se corrieron dos análisis KEGG por separado, uno para los mensajeros sobre-expresados (**Fig.19**) y otro para los sub-expresados (**Fig.20**).

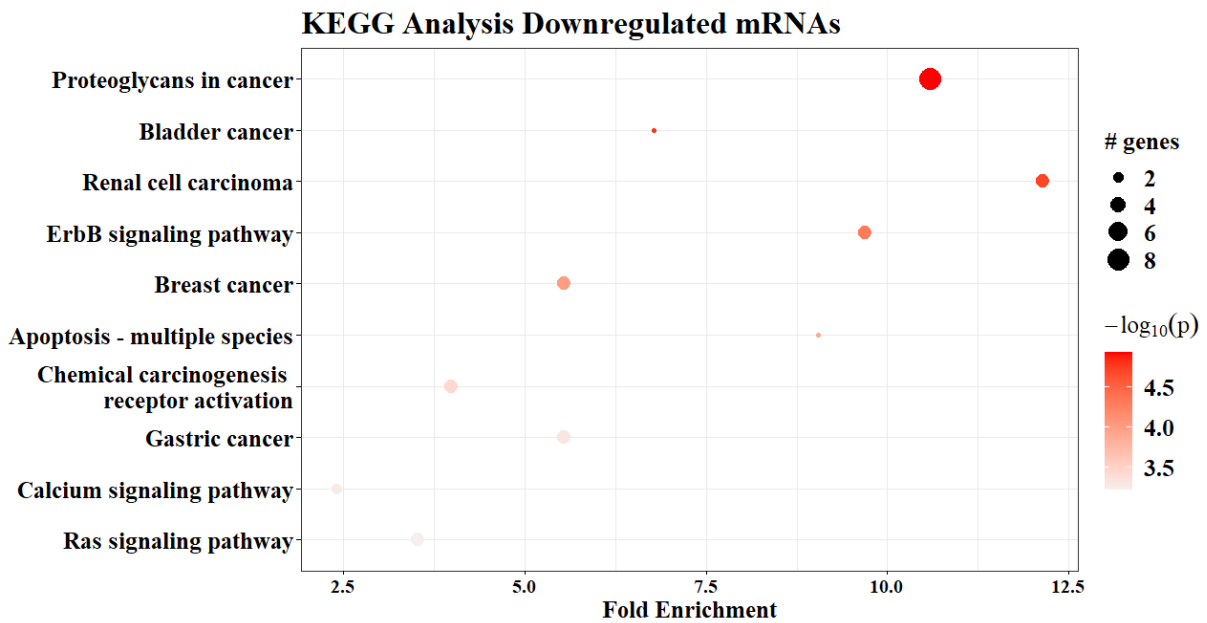
Se encontró que para los mRNAs sobre-expresados (**Fig.19**) la vía con mayor enriquecimiento es la de cáncer de vejiga más de 25 veces, seguido de la apoptosis con más de 10 veces; y otras vías como el ciclo celular, carcinogénesis química).

Cuando se realizó el análisis de enriquecimiento de los miRNAs subexpresados (**Fig.20**), se encontró que la vía de carcinoma renal fue la más enriquecida (cerca de 12 veces), mientras que el proceso con mayor número de genes desregulados fueron los proteoglicanos en cáncer (8 genes). Se encontraron enriquecidas vías de señalización como lo son ErbB, la vía de señalización de Ras, y la vía de señalización del Calcio.

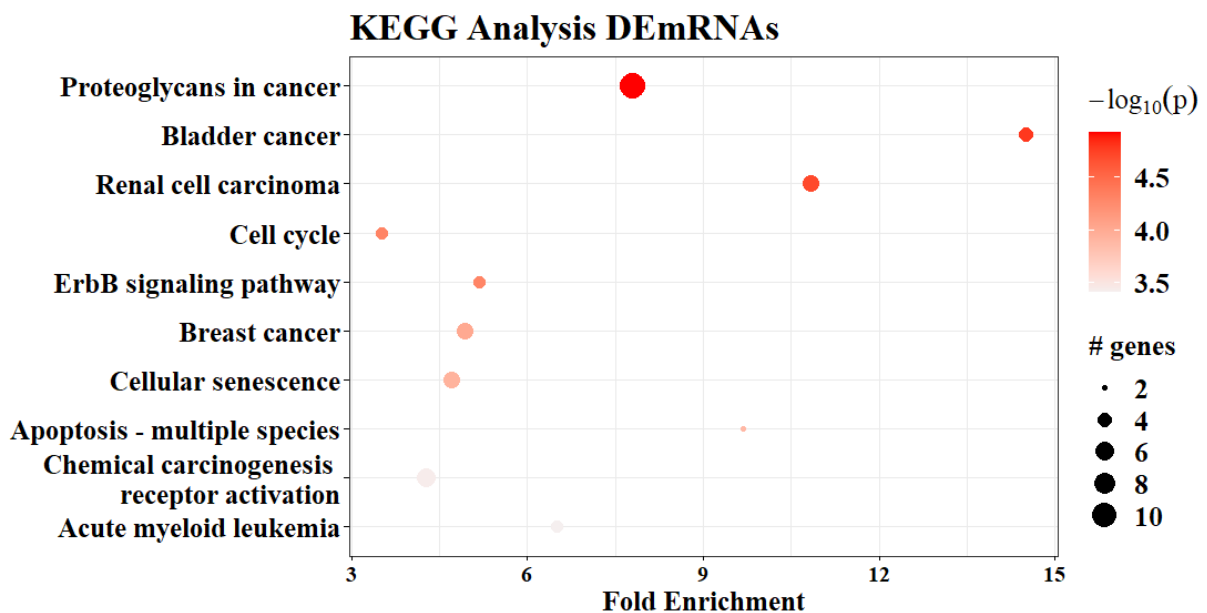
Al realizar el análisis de enriquecimiento de todos los DEmRNAs (**Fig.21**) se encontró que el proceso con mayor enriquecimiento fue la vía de cáncer de vejiga (casi 15 veces), seguido de la vía de carcinoma de celular renales (alrededor de 10 veces); mientras que el proceso con mayor número de genes enriquecidos fueron los proteoglicanos en cáncer (con 10 genes). Otros procesos que se encontraron enriquecidos fueron la vía de señalización de ErbB, la apoptosis y la carcinogénesis química.



- **Figura 19: Análisis KEGG de DEmRNAs sobre - expresados.** Se aprecian las 10 principales vías enriquecidas por los mRNAs de la ceRNet. Se observa que Proteoglycans in Cancer se encuentra enriquecido 25 veces.

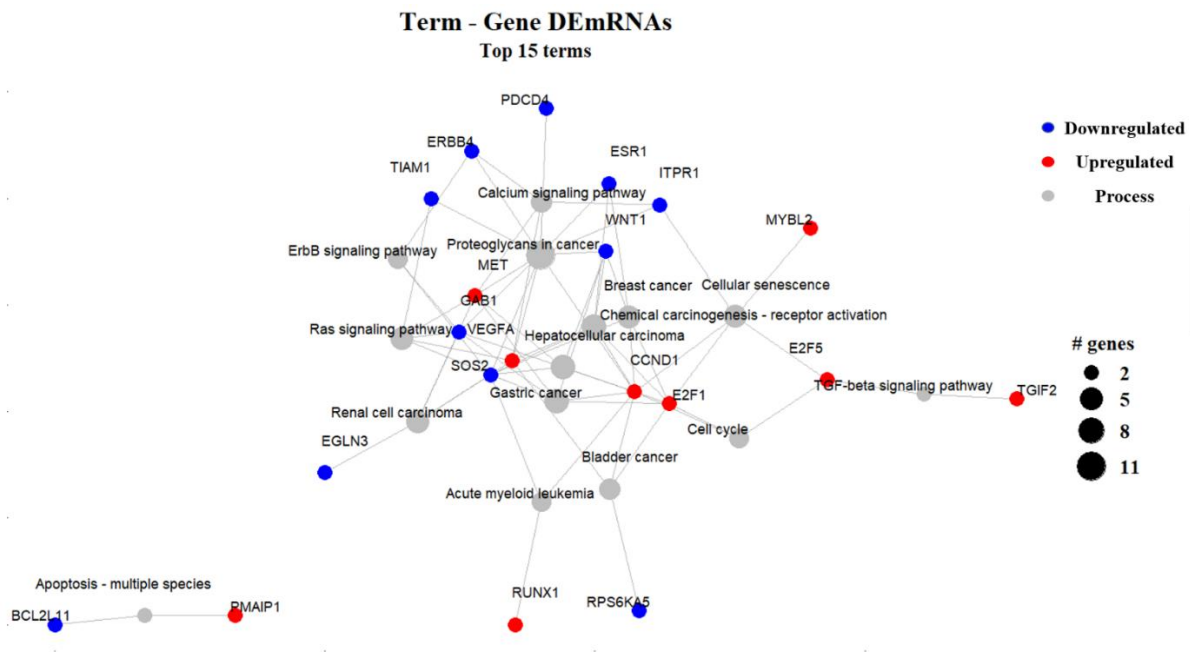


- **Figura 20: Análisis de los DEmRNAs sub - expresados.** Se aprecian las 10 principales vías enriquecidas por los mRNAs de la ceRNet. Se observa que Proteoglycans in Cancer se encuentra enriquecido 25 veces.



- **Figura 21: Análisis KEGG DEmRNAs.** Se aprecia el efecto cumulativo de todos los DEmRNAs que participan en la ceRNet.

Para entender mejor cuáles son los genes que están participando en estas vías enriquecidas y cómo se encuentran interactuando, se generó una gráfica término-gen para las principales 10 vías enriquecidas en el análisis KEGG (**Fig.22**). Se observa que los procesos están cercanamente relacionados entre sí con genes con genes tanto sobre-expresados como sub - expresados.



- **Figura 22: Gráfica término-gen (KEGG).** Se puede apreciar que los principales procesos enriquecidos se encuentran cercanamente interconectados entre sí, con genes tanto sobre-expresados como sub-expresados.

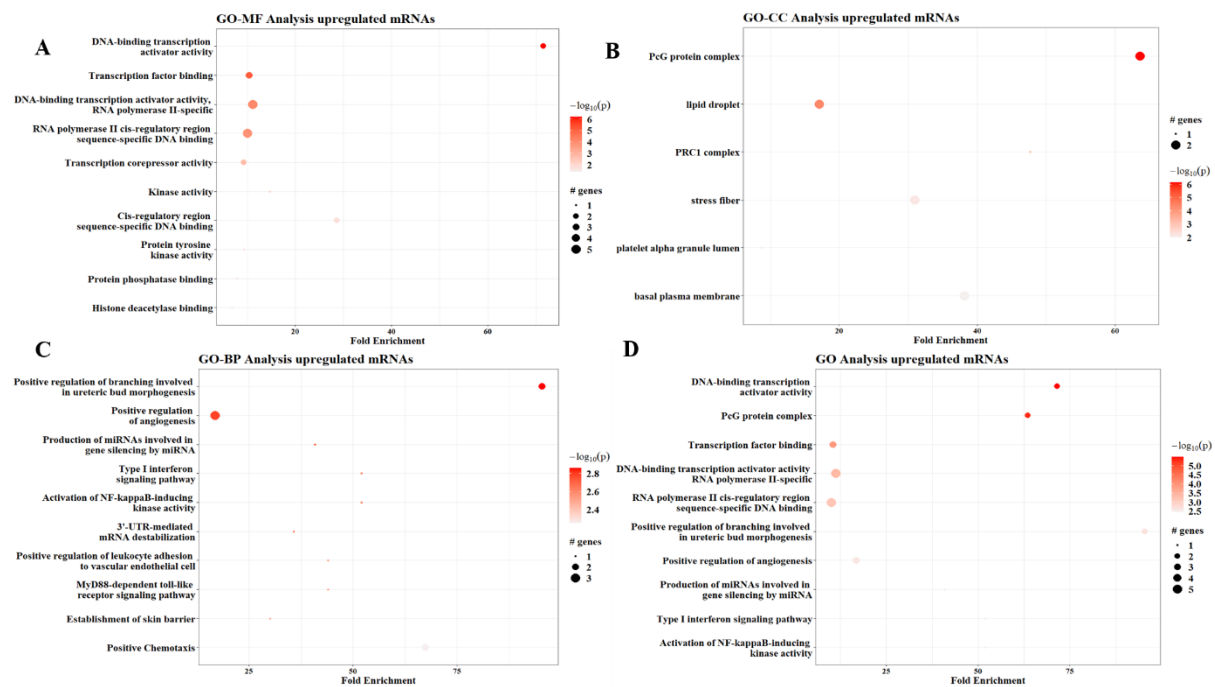
## 7.6 GO

Con el objetivo de evaluar los procesos biológicos enriquecidos por la actividad de los mRNAs que participan en la ceRNet, se corrieron dos análisis GO en el paquete pathfindR uno para los mensajeros sobre-expresados y otro para los sub-expresados. En la **Fig.23** se puede apreciar los análisis GO para los mensajeros sobre – expresados. El análisis de Función molecular (**Fig.23a**) se observa que existen procesos enriquecidos asociados a la regulación de la actividad transcripcional como *DNA-binding transcription activator activity*, *Transcription corepressor activity*, la actividad de factores transcripcionales asociados a la RNAPol II, etc. En el caso de los Componentes Celulares (**Fig.23B**) se observó que los principales procesos enriquecidos son el complejo de silenciamiento asociado a Polycomb y asociados a los cuerpos lipídicos (*Lipid droplet*).

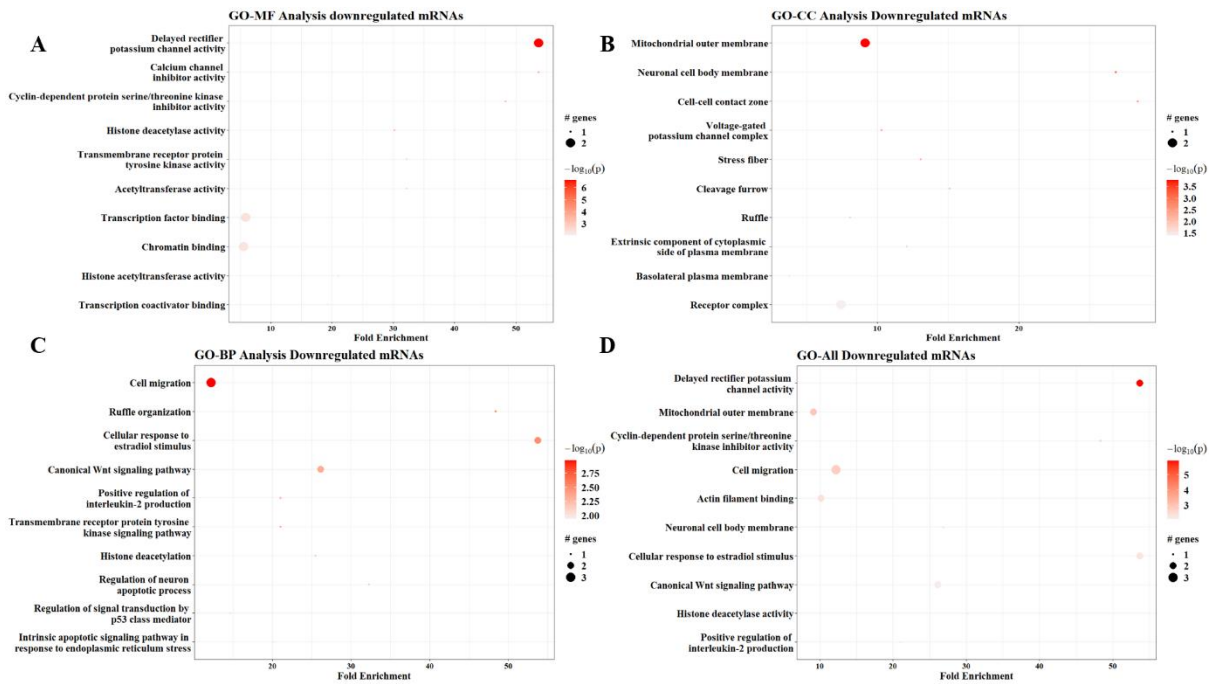
Por otra parte, el análisis realizado a nivel de componente molecular arrojó que uno de los procesos más enriquecidos es la regulación positiva de la angiogénesis y la quimiotaxis (**Fig.23C**). Al correr el análisis en todos los niveles, se observó que el principal proceso biológico enriquecido es la actividad de activadores transcripcionales de unión a DNA y el

complejo de represión de Polcomb, así como la actividad de activadores transcripcionales específicos de la RNAPol II (**Fig.23D**).

Se repitieron los análisis de enriquecimiento de procesos biológicos para los mRNAs subexpresados. En el caso de las funciones moleculares (**Fig.24A**), se encontró que la actividad de los canales potasio asociados a voltaje son la función molecular con mayor enriquecimiento, cabe resaltar que los procesos con una mayor cantidad de genes son la unión de factores transcripcionales y la unión a cromatina. En el caso del análisis de Componentes Celulares (**Fig.24B**), se enriquecieron los genes asociados a la membrana externa mitocondrial; de la misma forma, los complejos receptores son el proceso que contiene un mayor número de genes expresados diferencialmente.



- **Figura 23: Análisis GO de DEMRNAs sobre-expresados.** Se aprecian los 10 principales procesos biológicos enriquecidos; **A) Función Molecular, B) Componente Celular, C) Proceso Biológico y D) Todos los procesos.**



- **Figura 24: Análisis GO de DEmRNAs sub-expresados.** Se aprecian los diez principales procesos biológicos enriquecidos por los DEmRNAs sub-expresados asociados a la ceRNet; **A)** Función Molecular, **B)** Componente Celular, **C)** Proceso Biológico y **D)** Todos los procesos.

En el análisis de procesos biológicos de los mRNAs subexpresados (**Fig.24C**) se encontró que el proceso con la mayor cantidad de genes desregulados fue la migración celular, y los dos principales procesos enriquecidos fueron la respuesta celular al estímulo con estradiol y la vía de señalización canónica de Wnt. Cuando se analizó a todos los niveles (**Fig.24D**) se encontró que los principales procesos biológicos enriquecidos fueron la actividad de los canales retardados de potasio; mientras que los procesos con una mayor cantidad de genes expresados diferencialmente fueron la migración celular, la respuesta a la hipoxia y la regulación positiva de la apoptosis.

Con el objetivo de evaluar el efecto de regulación de toda la red, se realizaron los análisis GO con todos los DEmRNAs regulados por la ceRNet (**Fig.25**). Para las funciones moleculares (**Fig.25A**) se encontró que el principal proceso enriquecido fue la actividad de activadores transcripcionales de unión a DNA (>30 veces). De la misma forma, se observó que los procesos con una mayor cantidad de genes expresados diferenciales estuvieron todos asociados a la regulación transcripcional. Para los componentes celulares (**Fig.25B**), se observó que el proceso con mayor enriquecimiento fue el complejo proteico PcG (>25 veces), seguido por la

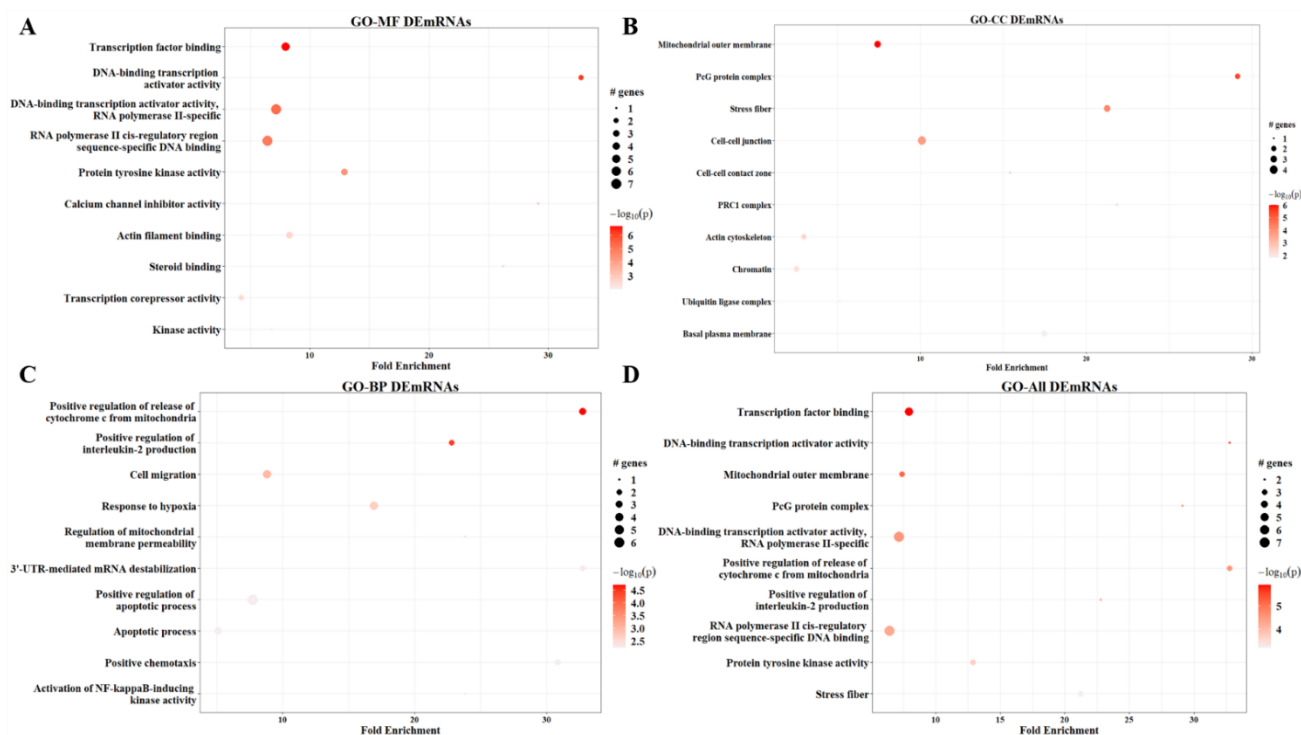
fibra de estrés (>20 veces); los procesos con mayor cantidad de DEmRNAs fueron las uniones célula-célula y la membrana mitocondrial externa.

A nivel de procesos biológicos (**Fig.25C**), se encontró que la Regulación positiva de la liberación del citocromo C de la mitocondria es el proceso biológico con mayor enriquecimiento y más genes afectados (>30 veces, 6 genes), seguido de la regulación positiva de la producción de IL-2 (>25 veces), y otros procesos importantes como son la respuesta a la hipoxia, la migración celular y la regulación positiva de la apoptosis. En el caso del análisis a todos los niveles (**Fig.25D**) se apreció que los principales procesos enriquecidos fueron la regulación positiva de la liberación del citocromo C de la mitocondria (>30 veces) y la actividad de activadores transcripcionales de unión a DNA (30 veces), seguido de la actividad del complejo PcG (28 veces) y regulación positiva de la producción de IL-2 (25 veces), mientras que los procesos biológicos con una mayor cantidad de genes afectados fueron *RNApolIII cis-regulatory región sequence-specific DNA binding* y *DNA-binding transcription activator activity, RNA-pol II specific* con 7 genes.

Se observó que a nivel de proceso biológico el fenómeno más enriquecido fue la regulación positiva de la liberación del citocromo c de la mitocondria y la desestabilización de mRNA mediada por 3'-UTR, así como la quimiotaxis positiva (todos >30 veces). De la misma forma, los procesos con la mayor cantidad de DEmRNAs fueron la regulación positiva de la apoptosis, la respuesta a la hipoxia y la migración celular.

Para conocer cuáles son los genes que participan en el enriquecimiento y cómo interconectan a los procesos biológicos se generó la gráfica término-gen (**Fig.26**) de la misma forma que para el análisis KEGG que se realizó previamente. Se puede apreciar que existen procesos biológicos muy interconectados como la actividad de activadores transcripcionales de unión a DNA, y la unión de factores transcripcionales. De la misma forma, se aprecian que los procesos asociados a la mitocondria, la fibra de estrés y la actividad de las tirosin-cinasas se encuentran separados, pero bajo la regulación de varios genes tanto sobre-expresados como sub-expresados.



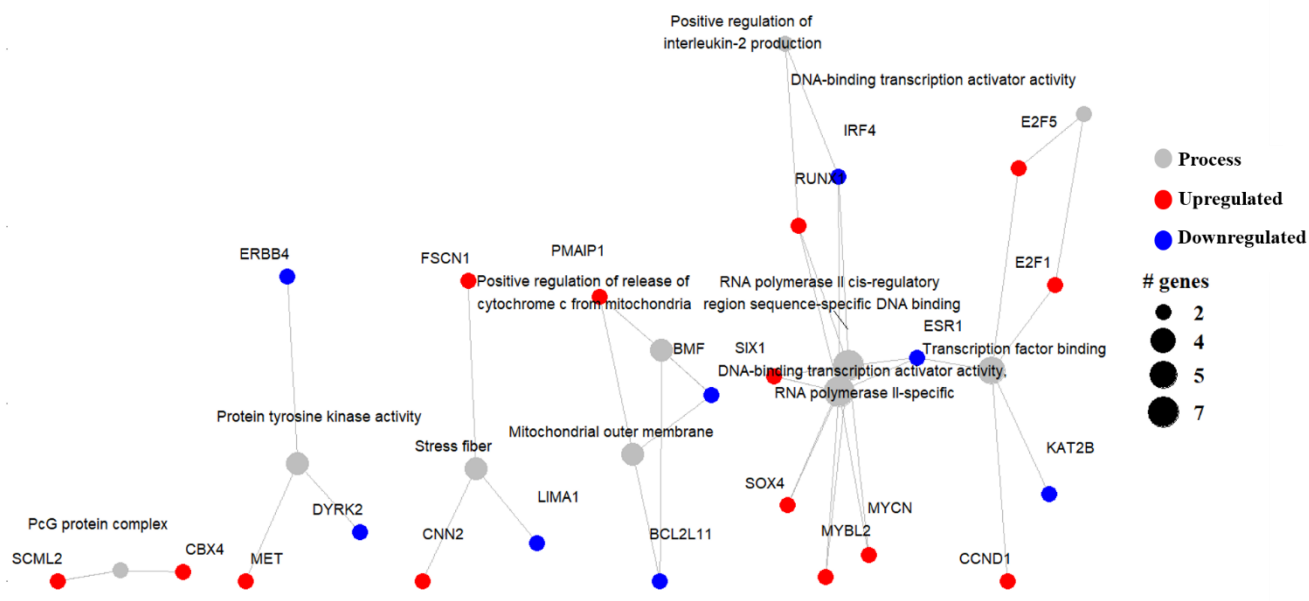


- Figura 25. Análisis GO del efecto acumulativo de los DE mRNAs asociados a la ceRNet.** Se aprecian los principales 10 procesos biológicos enriquecidos con el efecto aditivo de todos los mensajeros regulados por la ceRNet.

Con el objetivo de conocer cómo se interconectaban los procesos biológicos enriquecidos por la red, se construyó una gráfica término-gen (Fig.26) de los resultados obtenidos en el análisis GO. Se aprecia que existen procesos biológicos cercanamente interconectados con jugadores moleculares tanto sobre- como sub- expresados.

Una vez identificadas el efecto de regulación de la expresión en vías de señalización y procesos biológicos ejercidos por la ceRNet, se propuso a evaluar la posible relevancia clínica de los lncRNAs asociados a los SCNAs que participan en la ceRNet. Se realizaron curvas Kaplan-Meier de supervivencia asociada al nivel de expresión de los lncRNAs y se identificaron tres lncRNAs cuya expresión está significativamente asociada a la supervivencia de los pacientes: C5orf64, HOTAIR, y NPY6R.

### GO term-gene DEmRNAs Top 10 terms

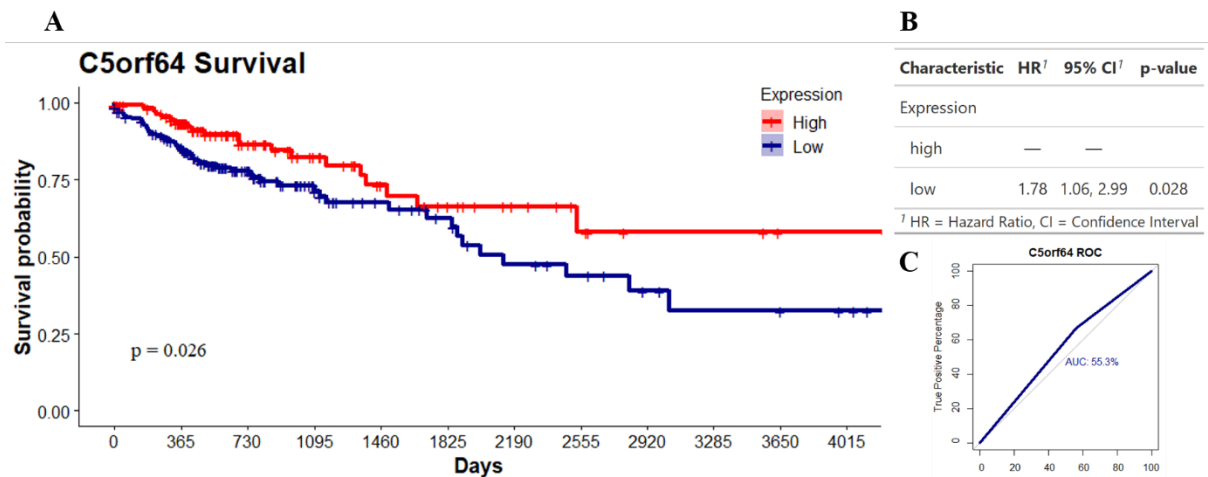


- **Figura 26: Gráfica término-gen (GO) de DEmRNAs regulados por la ceRNet.** Se puede apreciar que existen procesos altamente relacionados, y otros que se encuentran como satélites, pero bajo la actividad de varios genes.

## 7.7 Curvas de Supervivencia

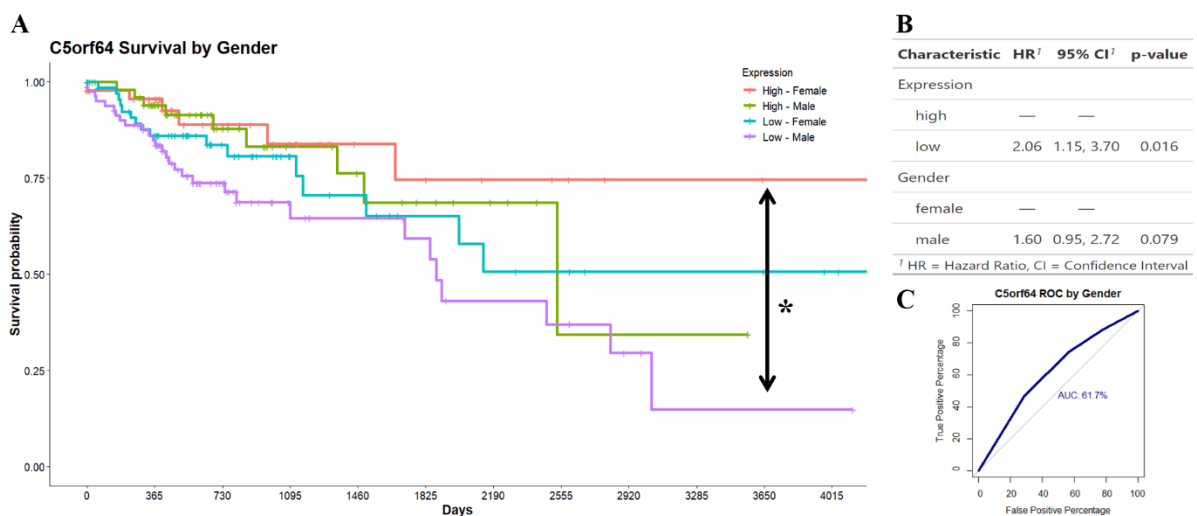
Finalmente, se complementaron las curvas de supervivencia con variables de interés clínico, Sexo y Estadio Clínico de los tumores, agrupado en etapas tempranas: Estadio I y II, y tardías: Estadio III y IV.

Se observó que los pacientes que presenten baja expresión de C5orf64 (**Fig.27<sup>a</sup>**) poseen una menor probabilidad de supervivencia ( $p = 0.026$ ); la regresión de Cox mostró que la probabilidad de riesgo (HR; **Fig.27B**) es 1.78 veces mayor ( $p = 0.028$ ). Además, la gráfica ROC arrojó que el AUC muestra una discriminación 55.3% (**Fig.27C**).



- **Figura 27: Curva de supervivencia de expresión C5orf64:** A) Se aprecia en azul al grupo de pacientes con baja expresión y en rojo a los pacientes con alta expresión, B) Tabla de regresión de Cox, C) Curva ROC.

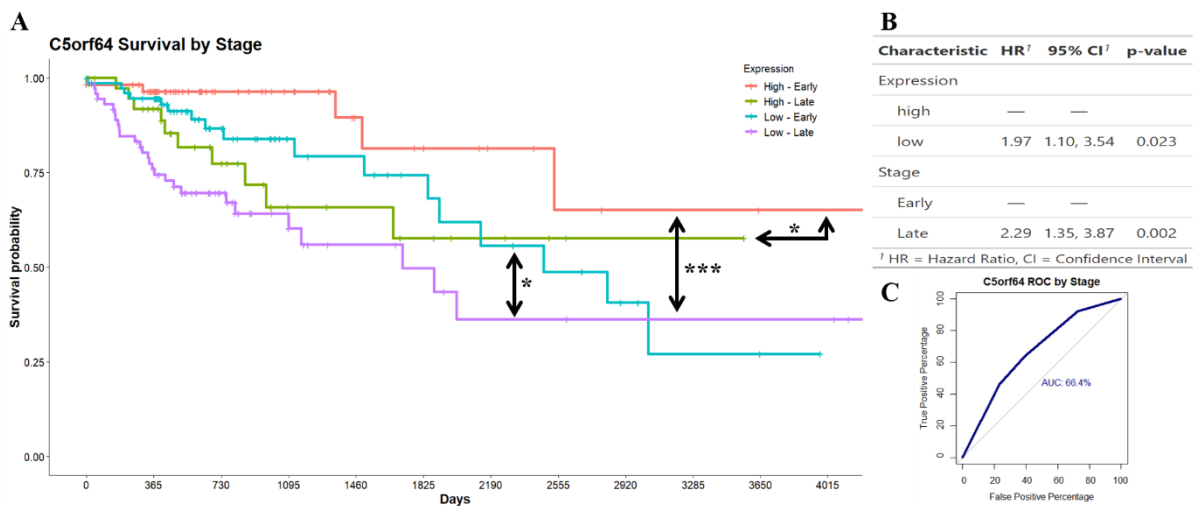
Posteriormente, se analizó si existían diferencias significativas por **sexo** (**Fig.28A**). Se encontró que existe diferencia significativa entre los grupos femenino – alta expresión y masculino – baja expresión ( $p_{adj} = 0.05$ ), sin embargo, no se encontró diferencia significativa en la HR (**Fig.28B**;  $p = 0.079$ ). Finalmente se observó que el valor del AUC fue de 61.7% (**Fig.28C**).



- **Figura 28: Curva de supervivencia de C5orf64 por género.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Mujeres – alta expresión, Verde = Hombres – alta expresión, Azul = Mujeres – baja expresión, Morado = Hombres – baja expresión;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

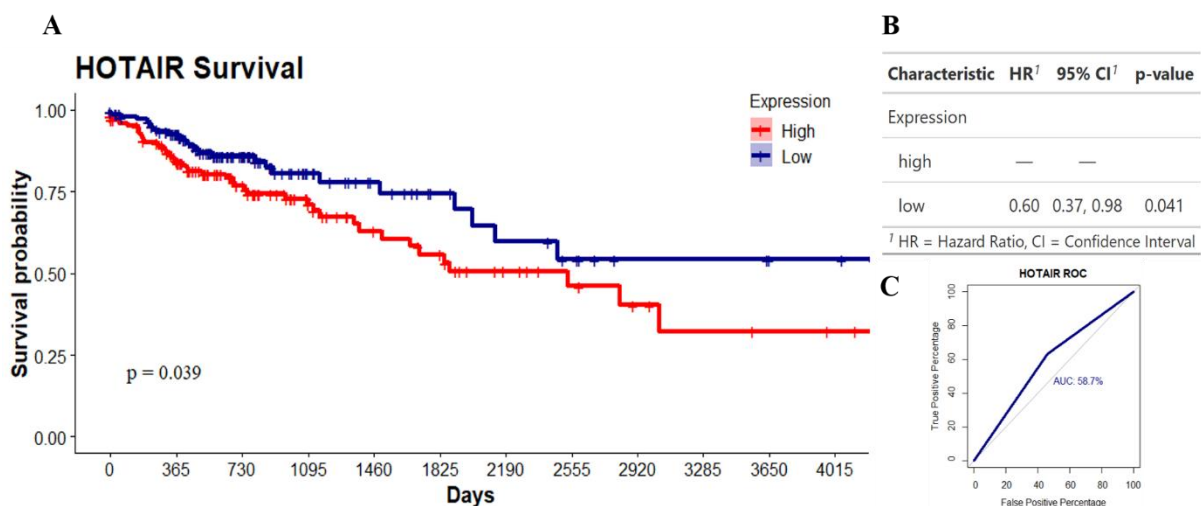
Cuando se analizó el efecto del estadio clínico sobre la supervivencia de los pacientes asociada a la expresión de C5orf64 (**Fig.29A**) se encontró diferencia significativa en baja expresión entre temprano y tardío ( $p = 0.053$ ), entre baja expresión tardía y alta expresión temprana ( $p =$

0.00075), y entre los grupos de alta expresión ( $p = 0.053$ ). La regresión de Cox (**Fig.29B**) arrojó el resultado de una HR 1.97 veces mayor en el grupo de baja expresión ( $p = 0.023$ ) y 2.29 veces mayor al grupo de estadio tardío ( $p = 0.002$ ). Finalmente se encontró que el AUC fue de 66.4% (**Fig.29C**).



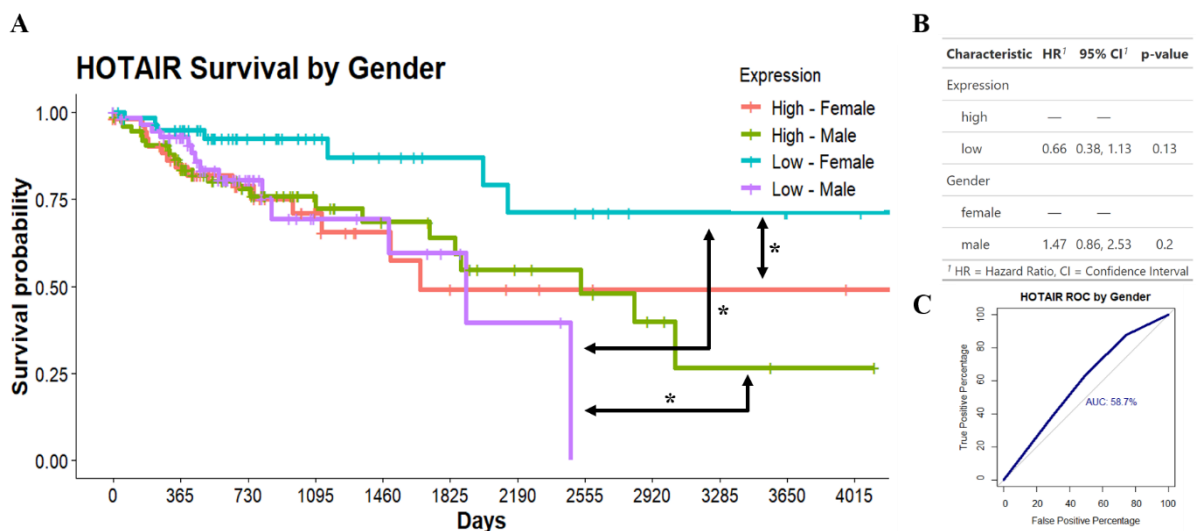
- **Figura 29: Curva de supervivencia de C5orf64 por Estadio.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Alta expresión – Etapas Tempranas, Verde = Alta Expresión – Etapas Tardías, Azul = Baja expresión – Etapas Tempranas, Morado = Baja expresión – Etapas Tempranas;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

Se encontró que una alta expresión de HOTAIR (**Fig.30A**) está correlacionado con una baja probabilidad de supervivencia de los pacientes ( $p = 0.026$ ), la regresión de Cox arrojó que, en el grupo con baja expresión, posee un HR 0.52 (**Fig.30B**;  $p = 0.041$ ) y el valor de AUC mostró un porcentaje de discriminación del 58.7% (**Fig.30C**).



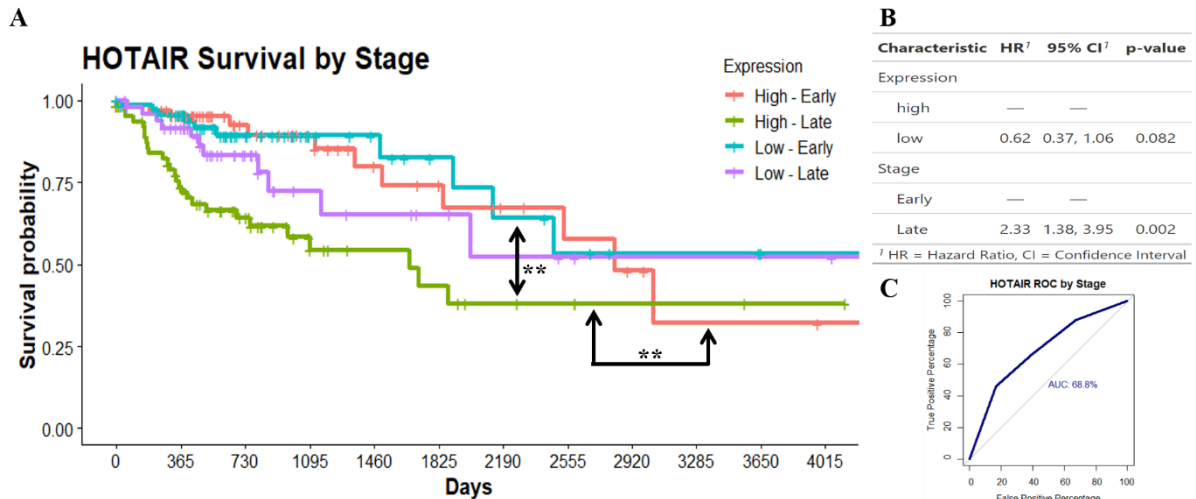
- **Figura 30: Curva de supervivencia de expresión de HOTAIR:** A) Se aprecia en azul al grupo de pacientes con baja expresión y en rojo a los pacientes con alta expresión, B) Tabla de regresión de Cox, C) Curva ROC.

Al evaluar el efecto del sexo de los pacientes sobre la probabilidad de riesgo asociada a la expresión de HOTAIR (**Fig.31A**) se observó que existe diferencia significativa en los niveles de expresión del sexo femenino ( $p_{adj} = 0.030$ ), entre la alta expresión del masculino con la baja del femenino ( $p_{adj} = 0.025$ ), y entre la baja del femenino y la baja del masculino ( $p = 0.025$ ). La regresión de Cox (**Fig.31B**) no arrojó resultados significativos en la HR. Para el caso de la curva ROC (**Fig.31C**) se observó que el AUC fue de 58.7%.



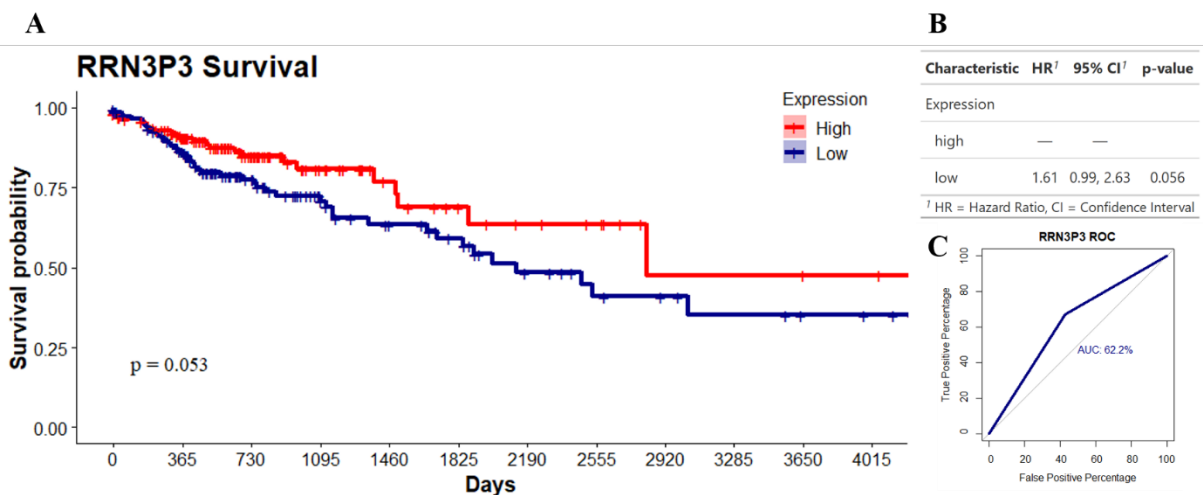
- **Figura 31: Curva de supervivencia de HOTAIR por género.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Mujeres – alta expresión, Verde = Hombres – alta expresión, Azul = Mujeres – baja expresión, Morado = Hombres – baja expresión;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

De la misma forma, se evaluó el efecto del estadio clínico de los pacientes sobre la probabilidad de supervivencia asociada a la expresión del largo. Se encontró que existen diferencias significativas en la supervivencia (**Fig.32A**) entre los grupos de alta expresión ( $p = 0.0049$ ), y entre alta expresión – estadio tardío con baja expresión – estadio temprano ( $p = 0.0043$ ). La regresión de Cox (**Fig.32B**) arrojó que el HR del grupo de estadios tardíos es 2.33 veces mayor ( $p = 0.002$ ). El análisis de AUC de la curva fue de 68.8% (**Fig.32C**).



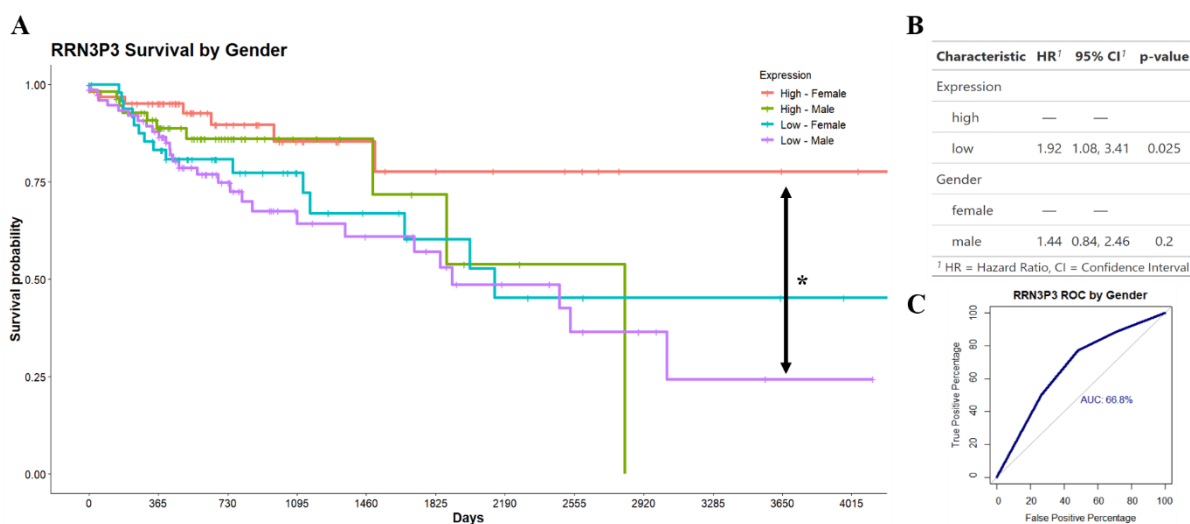
- **Figura 32: Curvas de Supervivencia de HOTAIR por Estadio.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Alta expresión – Etapas Tempranas, Verde = Alta Expresión – Etapas Tardías, Azul = Baja expresión – Etapas Tempranas, Morado = Baja expresión – Etapas Tempranas;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

Para RRN3P3 (**Fig.33A**) se observó que los pacientes con una baja expresión presentan una menor probabilidad de supervivencia ( $p = 0.053$ ), y poseen una mayor proporción de riesgo (**Fig.33B**,  $p = 0.056$ ), además el AUC arrojó un porcentaje de discriminación de 62.2% (**Fig.33C**).



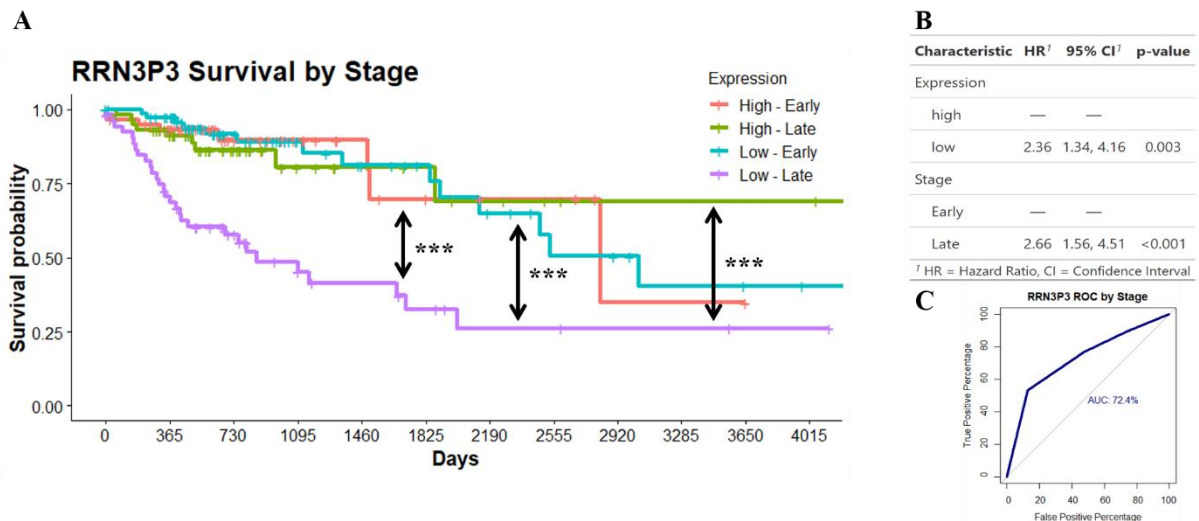
- **Figura 33: Curva de supervivencia de expresión de RRN3P3:** A) Se aprecia en azul al grupo de pacientes con baja expresión y en rojo a los pacientes con alta expresión, B) Tabla de regresión de Cox, C) Curva ROC.

Al tomar en cuenta el sexo de los pacientes, se observó que existe diferencia significativa entre el grupo de alta expresión femenino y baja expresión masculino (**Fig.34<sup>a</sup>**,  $p = 0.022$ ). Al realizar la regresión de Cox, se observó que no existe diferencia significativa asociada al sexo de los pacientes (**Fig.34B**), y finalmente se encontró que el AUC calculada para la curva ROC fue de 66.8% (**Fig.34C**).



- **Figura 34: Curva de supervivencia de RRN3P3 por género.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Mujeres – alta expresión, Verde = Hombres – alta expresión, Azul = Mujeres – baja expresión, Morado = Hombres – baja expresión;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

Finalmente se analizó el impacto del estadio sobre la probabilidad de supervivencia de los pacientes. Se encontró que existen diferencias significativas (**Fig.35<sup>a</sup>**) entre los grupos alta expresión – estadios tempranos ( $p = 0.00032$ ), alta expresión – estadios tardíos con baja expresión estadios tardíos ( $p = 0.00036$ ) y los grupos de baja expresión ( $p = 0.000085$ ). El análisis de la regresión de Cox (**Fig.35B**) arrojó que los pacientes con baja expresión tienen un HR 2.36 veces mayor ( $p = 0.003$ ), y que los pacientes en etapas tardías tienen un HR 2.66 veces mayor ( $p < 0.001$ ). El análisis del AUC fue de 72.2% (**Fig.35C**).



- **Figura 35: Curva de supervivencia de RRN3P3 por Estadío.** A) Se aprecia la curva de supervivencia asociada a la expresión del lncRNA por género (Naranja = Alta expresión – Etapas Tempranas, Verde = Alta Expresión – Etapas Tardías, Azul = Baja expresión – Etapas Tempranas, Morado = Baja expresión – Etapas Tempranas;  $p_{adj} < 0.05$ ), B) Se aprecia la tabla asociada a la regresión de Cox para la HR, C) Curva ROC.

Para evaluar si la expresión de los lncRNAs asociados a SCNAs estaba correlacionada con la prognosis de los pacientes se realizaron curvas de supervivencias asociadas a la expresión de los lncRNAs. Se encontró que tres lncRNAs tienen correlación con la prognosis de los pacientes: una baja expresión de C5orf64 (**Fig.27**) está asociado con una mala prognosis, no se observó un patrón diferente por el sexo de los pacientes (**Fig.28**), sin embargo, sí se observó por el estadío de los pacientes, particularmente en etapas tempranas (**Fig.29**). Para el caso de HOTAIR se encontró que una alta expresión está asociada a una peor prognosis (**Fig.30**), una diferencia significativa entre los grupos de baja expresión por sexo (**Fig.31**), y diferencias de prognosis entre los grupos por estadío (temprana vs temprana y tardía vs tardía; **Fig.32**). Finalmente, en el caso de RRN3P3 se encontró que una baja expresión está asociada a una peor prognosis (**Fig.33**), se encontró diferencia entre los grupos de alta expresión por sexo (**Fig.34**), y que el grupo de baja expresión en estadíos tardíos es el que presenta la peor prognosis respecto a los demás (**Fig.35**).

## 8. Discusión

El objetivo del presente proyecto fue identificar los lncRNAs que alteran su expresión en muestras de pacientes con CCR como resultado de estar codificados en regiones genómicas con SCNAs, y el efecto que tienen en la regulación de la expresión genómica y la adquisición del fenotipo tumoral.



Se analizaron datos de expresión y de secuenciación genómica del proyecto Adenocarcinoma Colorectal, del repositorio del TCGA. Se identificaron 78 DElncRNAs asociados a SCNAs, 410 DEmiRNAs y 5028 DEmRNAs. Mediante técnicas de minería de datos se predijeron interacciones entre DElncRNAs y DEmiRNAs y a su vez entre DEmiRNAs y DEmRNAs. Se construyó una red de competencia endógena compuesta por 30 lncRNAs, 18 miRNAs and 76 mRNAs, posteriormente se evaluó el papel de la ceRNet sobre la adquisición del fenotipo tumoral mediante análisis de enriquecimiento de vías de señalización (KEGG), donde se observó que la ceRNet regula procesos tanto oncogénicos tales como la carcinogénesis química, el ciclo celular y los proteoglicanos en cáncer; y anti-oncogénicos como senescencia celular y apoptosis.

De la misma forma se evaluaron procesos biológicos enriquecidos (GO) por la actividad de la ceRNet y se observó que la red se encuentra asociada con procesos de regulación transcripcional (actividad de factores transcripcionales, complejo de silenciamiento mediado por Polycomb, y el silenciamiento mediado por miRNAs. Finalmente, se analizó la posible relevancia clínica asociada a la expresión de los DElncRNAs reguladores de la ceRNet mediante curvas de supervivencia y regresiones de Cox, se reportó que C5orf64, HOTAIR y RRN3P3 presentan correlaciones significativas con la prognosis de los pacientes.

Mediante una serie de herramientas bioinformáticas se identificaron 273 DElncRNAs ( $p_{adj} < 0.05$ ;  $LFC < -1$ ;  $LFC > 1$ ; **Fig.11**) del proyecto de Adenocarcinoma Colorrectal obtenido del TCGA. Los resultados descritos corresponden con los reportes de como los lncRNAs alteran su expresión resultante de la tumorigénesis y la progresión tumoral (Jiang et al., 2019). Esto se ha reportado previamente para CCR, donde se ha descrito lncRNAs expresados diferencialmente desde etapas tempranas como lo es SNHG11 (Xu et al., 2020), en etapas avanzadas; como lo es MFI2-AS1 (Luo et al., 2020) e inclusive en tumores metastáticos con efectos tanto pro-tumorales como lo es FTX (Chen et al., 2021), como anti – tumorales (Bai et al., 2020).

Lo anterior está respaldado con la creciente literatura que menciona los diferentes roles pro- y anti- oncogénicos de los lncRNAs, tales como la promoción de la proliferación (Zhang et al., 2021), la regulación de la apoptosis (Zhang et al., 2019) e inclusive la radio-resistencia (Liu et al., 2020); de esta forma los presentes resultados resaltan la importancia de los lncRNAs en la progresión tumoral.

El principal objetivo de este trabajo fue identificar los lncRNAs asociados a SCNAs. Como un primer acercamiento se organizaron los lncRNAs por posición cromosómica y se agruparon mediante herramientas semi-supervisadas (**Fig.12**). Se observó que existen patrones de alteración por posición cromosómica, lo cual corresponde a lo que se ha reportado previamente por Beroukhim (2010) y Zack (2013), quienes describieron los patrones de alteraciones cromosómicas en diferentes tipos de malignidades, respectivamente. Con esto en mente, tiene sentido pensar que estas alteraciones pueden afectar a más de un gen, si se encuentran lo suficientemente cercanos entre sí.

El siguiente paso fue validar la presencia de estas alteraciones en el set de datos estudiado, y cuáles eran los lncRNAs que se encontraban codificados en dichas regiones. Para esto se cargaron datos de secuenciación genómica de las muestras tumorales a la plataforma CNApp y se obtuvo el mapa con las SCNAs y su frecuencia en los pacientes (**Fig.13**). Con el fin de obtener cuales lncRNAs asociados a SCNAs, descargamos de CNApp la lista de genes presentes en dichas alteraciones y se obtuvieron 78 DElncRNAs (**Fig.14, Anexo; Tabla 2**).

Se detectaron alteraciones en todos los cromosomas (tanto amplificaciones como deleciones), los picos más altos de amplificación se hallaron en los cromosomas 7, 8, 13 y 20; para el caso de las deleciones más importantes se encontraron en los cromosomas 14, 15, 17 y 18.

Se encontró que EXOC3-AS1 (**Tabla 4**) el cual ha sido reportado sobre – expresado en pacientes con cáncer de pulmón (Ding et al., 2017; Liu et al., 2021). Otro ejemplo es INHBA-AS1, el cual ha sido propuesto como parte de un grupo de biomarcadores de diagnóstico en cáncer gástrico (Ke et al., 2017), además, en CCR ha sido reportado como oncogén promoviendo la progresión compitiendo por miR-422<sup>a</sup> (Lin et al., 2020).

CRYM-AS1 se encontró sobreexpresado, en la literatura ha sido reportado como un marcador de la prognosis de los pacientes pues se encontró con una baja expresión en las muestras tumorales, correlacionado negativamente con el estatus TNM, tamaño tumoral y supervivencia de los pacientes (Zhang et al., 2022). En los resultados aquí obtenidos se encontraron lncRNAs que se han reportado previamente para otros tipos de cáncer; mientras que este es el primer reporte de expresión diferencial y/o participación en CCR para algunos lncRNAs como lo son: ABCA17P, CATSPER2P1, CROCCP3, CT62, etc. (**Anexo, Tabla 2**).

Los resultados encontrados corresponden con el patrón de SCNAs para CCR (Wang et al., 2015). Existen reportes de que las SCNAs están asociadas con amplificaciones de oncogenes y la delección de genes supresores tumorales; como son c-Myc (amplificación 8q24; Shon et al.,

2014), ErbB2 (amplificación 17q12-21; Plum et al., 2019), o APC (deleción 5q22.31; Pouya et al., 2018). Otro ejemplo es EGFR (chr 7), cuya expresión en etapas avanzadas de CCR está asociada con una mejor prognosis para los pacientes (Randon et al., 2021). Por otro lado, la sobre - expresión de LNX2 (chr13) está asociada con un incremento en la expresión de NOTCH y un alza en la actividad de la vía de Wnt/ $\beta$ -catenina actuando como un oncogén (Camps et al., 2013).

La pérdida de genes supresores tumorales son eventos de relevancia tumoral. Un ejemplo es la pérdida de TP53 (chr 17) en las etapas tempranas de CCR (Kim et al., 2021), facilitando la progresión. Otro ejemplo es, la pérdida de SMAD4 que ocurre en alrededor del 35% de los pacientes e incluso podría utilizarse para caracterizar un sub-grupo de tumores (Ma et al., 2014) en una cohorte pacientes chinos. Se sabe que al deletarse SMAD4 se promueve la progresión tumoral a través de reclutar un mayor número de Neutrófilos Asociados a Tumor (Ogawa et al., 2019). En conjunto, los resultados presentados aquí junto con lo reportado previamente en la literatura demuestran la importancia que tienen las SCNAs con genes que facilitan la adquisición del fenotipo tumoral, sin embargo, poco se sabe sobre el efecto que ejercen con el transcriptoma no – codificante (H. Wang et al., 2016), particularmente sobre los lncRNAs resaltando la importancia del presente trabajo.

Una vez identificados los DElncRNAs asociados a SCNAs, el siguiente paso fue identificar el posible papel que tengan en la adquisición del fenotipo tumoral. Con esto en mente se planteó la construcción de una ceRNet, que permitió analizar la mayor cantidad de lncRNAs en conjunto y su efecto en múltiples procesos biológicos. Se obtuvieron los DEmiRNAs (**Fig.15**) y los DEmRNAs (**Fig.16**) de los archivos de RNA-Seq del repositorio del TCGA como se explicó con anterioridad; ambos resultados corresponden con lo que se ha reportado previamente para CCR (Huo et al., 2017; Schee et al., 2013), i.e. que existen patrones de expresión diferencial tanto de miRNAs como de mRNAs para CCR.

Con las listas de DElncRNAs, DEmiRNAs y DEmRNAs se aprovecharon diferentes técnicas para la minería de datos para predecir interacciones y generar ejes DElncRNA – DEmiRNA – DEmRNA para la construcción de la ceRNet (**Fig.17**). La red está conformada por 262 interacciones, entre 30 lncRNAs, 10 miRNAs y 76 mRNAs; éstas incluyen genes tanto sobre – expresados como sub – expresados para todos los biotipos).

Las ceRNets han sido descritas como entidades importantes para el desarrollo de diferentes malignidades. En adenocarcinoma de pulmón han sido relacionadas con vías de desarrollo

tumoral y correlacionadas con la supervivencia de los pacientes (Wu et al., 2020). En carcinoma de células escamosas de lengua, se ha reportado que estas redes pueden estar asociadas con la supervivencia de los pacientes y directamente con la patogénesis tumoral (R. Zhou et al., 2019). Para el carcinoma hepatocelular se ha propuesto que estas redes pueden estar formadas por potenciales biomarcadores, gracias a los patrones de expresión, la correlación con la prognosis de los pacientes y sus roles moleculares (Long et al., 2019).

Para el CCR se ha reportado que estas redes pueden estar asociadas con infiltrados tumorales (CD4+ de memoria, CD8+, Células B, etc.), y con la prognosis de los pacientes (Chen et al., 2021). En otro reporte se menciona que estas redes incluso son diferentes dependiendo de la región anatómica del colon (proximal vs distal; Qian et al., 2019), sin embargo, la mayoría de los autores se limitan a proponer potenciales biomarcadores (Guo et al., 2020; Yuan et al., 2019). En el presente trabajo se muestra la relevancia de los lncRNAs asociados a SCNAs como reguladores de la expresión en una ceRNet mediante su participación con diferentes jugadores moleculares, distintas vías de señalización y procesos biológicos.

Para entender mejor el rol que juegan los lncRNAs en CCR, se realizaron análisis KEGG para vías de interacción (**Fig.19-22**) y análisis GO para procesos biológicos (**Fig. 23- 26**). Se encontró que la ceRNet participa regulando procesos tanto onco- como anti-oncogénicos.

Cuando se realizó el análisis KEGG de los mRNAs sobre – expresados (**Fig.19**), sub – expresados (**Fig.20**) y el efecto acumulativo de los mensajeros de la red (**Fig.21**) se encontró que existen múltiples procesos asociados a tumor enriquecidos, entre ellos el ciclo celular y la senescencia, ambos procesos cercanamente relacionados y de alta importancia en cáncer. Se sabe que la activación de oncogenes somete a la célula a estrés replicativo que puede inducir senescencia (fenómeno llamado senescencia inducida por activación oncogénica), la cual impide la transformación a tumores malignos (Calcinotto et al., 2019); mostrando así un balance delicado entre ambos procesos.

Otro de los fenómenos con una mayor cantidad de genes desregulados fueron los proteoglicanos en cáncer. Los proteoglicanos son moléculas que comparten el mismo núcleo proteico y se diferencian por las cadenas laterales de glucosaminoglicanos (Iozzo & Schaefer, 2015). Los proteoglicanos pueden actuar como moléculas tanto oncogénicas como anti – oncogénicas. La pérdida de SDC1 está asociada con el estadio clínico de los pacientes con CCR (Wei et al., 2015), se ha reportado que su sobre – expresión inhibe la proliferación suprimiendo a Ciclina-D1, disminuye la migración regulando negativamente a MMP-9 e incluso puede

bloquear las vías de JAK/STAT y Ras/Raf/Mek/Erk (Wang et al., 2019). La pérdida de SDC1 está asociada con un incremento en el potencial metastático, la recurrencia tumoral y una disminución en la probabilidad de supervivencia de los pacientes (Al-Maghrabi, 2020).

Otro proteoglicano de relevancia tumoral es la Decorina, cuya delección de la Decorina en un modelo murino incrementó la incidencia tumoral, y un incremento significativo en la expresión de factores transcripcionales asociados a la EMT, como son SNAIL, SLUG, TWIST, etc. (Mao et al., 2021). Otros ejemplos son el incremento de la expresión de Lumican (epitelial) y Versican (estromal) porque está asociado con una amplificación 13q en CCR (de Wit et al., 2017), dicha amplificación está presente en este trabajo.

Se encontraron enriquecidas vías asociadas a la progresión de diferentes tipos de malignidades, como son la leucemia mieloide aguda, el cáncer de mama, cáncer de células renales, cáncer de vejiga y cáncer gástrico, y vías de señalización de relevancia tumoral como son ErbB y Ras (**Fig.20**). Los receptores ErbB o EGF (Her) son una familia de proteínas relacionadas con una gran cantidad de procesos biológicos y de los primeros receptores asociados a cáncer (Roskoski, 2014), entre otros, regulan procesos como la proliferación, supervivencia y diferenciación celular (Sigismund et al., 2018). La formación de los complejos ligando-receptor ErbB, inicia una cascada que afecta a diferentes vías de señalización, entre ellas RAS/ERK, PI3K, y STAT (Wang, 2017).

Para CCR las mutaciones activantes en la vía de Ras se encuentran con una alta frecuencia (~45% de las muestras; Costigan & Dong, 2020) debido a que regula procesos celulares como la proliferación, diferenciación, supervivencia y angiogénesis (Santarpia et al., 2012) por lo que es de gran importancia para la progresión tumoral en CCR. Las guías clínicas recomiendan pruebas moleculares en busca de mutaciones para RAS en pacientes con CCR (Sepulveda et al., 2017) para decidir el tratamiento óptimo; e inclusive se ha reportado que el estadió mutacional de K-RAS está asociado una mayor probabilidad de recurrencia en los pacientes (Wan et al., 2019), por lo que tener una red que participa en la regulación de esta vía podría tener implicaciones que en futuro sean validadas experimentalmente e inclusive aplicadas a la clínica.

Se apreció que otro de los mecanismos anti - tumorales enriquecidos (**Fig.21**) fue la apoptosis. La apoptosis es un tipo de muerte celular programada que se caracteriza por la falta de inflamación en el tejido afectado; esto es debido a la progresión del evento: 1) ruptura del potencial de la membrana interna mitocondrial, 2) condensación de la cromatina y

fragmentación del núcleo celular, y 3) la degradación de la célula en estructuras membranales definidas, que son engullidas por macrófagos (Biermann et al., 2016).

La apoptosis celular, es uno de los procesos celulares mejor regulados y más eficientes que cumplen funciones en condiciones biológicas normales como el desarrollo embrionario y el envejecimiento celular actuando como un control de homeostasis tisular (Kashyap et al., 2021).

Debido a la gran cantidad de vías de señalización afectadas por la apoptosis, cuando ésta se desregula se favorece la proliferación descontrolada, el desarrollo tumoral e incluso la resistencia a la terapia farmacológica (Pistritto et al., 2016). Llegando a ser denominada como uno de los Hallmarks del Cáncer (**Fig.1**; Hanahan & Weinberg, 2011). Posteriormente se analizó cuáles son los DEmRNAs regulados por la ceRNet, como se interconectan y su papel en las vías moleculares obtenidas en el análisis KEGG (**Fig.22**).

Se encontró que BCL2L11 se encuentra sub-expresado. BCL2L11 es miembro de la familia de BCL2, tiene localización mitocondrial y puede actuar regulando la apoptosis excitotóxica (Kilbride et al., 2010). Se ha descrito que BCL2L11 (BIM) es un agente pro – apoptótico que regula a la familia BCL2 mediante su dominio BH3, señalizando la muerte celular programada (Czabotar et al., 2013). Ha sido propuesto como un potencial blanco terapéutico en diferentes tipos de cáncer. En cáncer gástrico se observó que BIM se encuentra sub – expresado en tejidos tumorales, debido a la regulación post – transcripcional ejercida por miR-24 (Zhang et al., 2016). En cáncer de ovario, se describió que al inducir la expresión de un HAND2-AS1 (lncRNA) se recupera la expresión de BIM, inhibiendo la proliferación y promoviendo la apoptosis tanto *in vitro* como *in vivo* (Chen et al., 2019); resultados similares se encontraron en CCR, donde la recuperación de la expresión de ACTA2-AS1 favorece la expresión de BIM mediante la competencia por miR-4428 (Pan et al., 2021).

De los resultados presentados, resalta la sobre – expresión de los factores transcripcionales E2F1 y E2F5. En la literatura se ha mencionado que E2F1 es un activador transcripcional de unión a DNA que reconoce el sitio E2 de múltiples genes (Fang et al., 2020). Se ha establecido que E2F1 es un blanco de la proteína Rb, la cual ha sido nombrada regulador maestro del ciclo celular y como tal, actúa como supresor tumoral en diferentes tipos de cáncer (Vélez-Cruz & Johnson, 2017). Rb suprime a E2F1 bloqueando su dominio de activación y reclutando histona desacetilasas que alteran la estructura de los genes blancos de E2F1 (Poppy-Roworth et al., 2015). Para cruzar de la fase G1 a S del ciclo celular se requiere de la actividad de E2F1, el

cual se libera cuando Rb se ve fosforilado y de esta manera se ve relacionado con la progresión del ciclo celular, reparación del daño a DNA, y la replicación (Fang et al., 2020).

Debido a la participación central de E2F1 en el ciclo celular y la reparación en daño a DNA, se ha reportado que puede sufrir alteraciones que aceleren el crecimiento tumoral; ya que participa en la vía de recombinación homóloga, vital para el mantenimiento de la integridad genómica en células de CCR (Choi & Kim, 2019). De la misma forma, se ha reportado que E2F1 se une al promotor de MNX-AS1 (lncRNA), que a su vez eleva la expresión de SEC61A1 compitiendo por miR-218-5p, facilitando la progresión tumoral vista a través de proliferación, migración e invasión (Ye et al., 2019).

Otro ejemplo fue reportado con la competencia existente entre E2F1 y MAT2B (circRNA) por miR-610, que resulta en un incremento en la expresión de E2F1 y en la proliferación de células de CCR (J. P. Zhao & Chen, 2020). Inclusive ha sido reportado que E2F1 puede actuar como un indicador de mala prognosis en combinación con la expresión de la enzima Timidylato sintasa en pacientes tratados con terapia adyuvante con 5-fluorouracilo, por lo que podría ser un buen blanco terapéutico (Sulzyc-Bielicka et al., 2016).

Existen reportes que E2F5 es uno de los miembros de la familia de factores transcripcionales E2F y actúa como represor transcripcional mediante la interacción con p107, p130 y Rb hipofosforilado durante la fase G1 del ciclo celular inhibiendo la expresión génica (Ertosun et al., 2016; Xie et al., 2020).

En cáncer de ovario, se observó que E2F5 se encuentra sobre - expresado y que su silenciamiento disminuye de forma significativa la viabilidad celular, la formación de colonias y la invasividad, debido a que E2F5 regula la expresión de genes asociados a las vías de Wnt e Hippo (Hanif Malgundkar et al., 2021). En cáncer de mamá se reportó que el *knockdown* de E2F5 disminuye de forma significativa la proliferación de las células en una forma mediada por TP53 llevada a cabo por BAX, NOXA y PUMA (Inagaki et al., 2020).

En cáncer de próstata se ha reportado que la sobre – expresión de E2F5 promueve un fenotipo de mayor agresividad regulando negativamente a TFIP2, y regulando positivamente a MMP-9 y MMP-2 (Karmakar et al., 2020). Para CCR se ha reportado que E2F5 se encuentra sobre – expresado y participa en la progresión, invasión y metástasis; sin embargo, puede ser regulado por miR-34a (Lu et al., 2015); se reportaron resultados similares para E2F5 cuando el lncRNA SNHG16 se expresa actuando como esponja para miR-181a-5p el cual tiene como blanco a E2F5 (Cai et al., 2017).

De esta forma, se puede apreciar que la ceRNet construida aquí está conformada por genes con roles tanto oncogénicos como supresores tumorales y que estos se encuentran cercanamente interconectados.

El siguiente paso fue analizar qué procesos biológicos podían estar regulados por la ceRNet propuesta. Con este fin se realizaron análisis GO para los mRNAs sobre - expresados (**Fig.23**), sub - expresados (**Fig.24**) y para el efecto acumulativo de la red (**Fig.25**).

En el análisis a nivel de función molecular de los mRNAs blancos de la ceRNet tanto sobre – expresados (**Fig.23A**), como tomando en cuenta todos los mRNAs (**Fig.25A**); se encontró que existen varios procesos enriquecidos asociados a la activación transcripcional siendo la Actividad de activadores transcripcionales de unión a DNA la que presentó un mayor enriquecimiento.

Estos resultados corresponden con lo que se sabe sobre la importancia de la regulación transcripcional de la expresión génica. Las células normales tienen patrones de expresión que son determinados por la actividad de factores transcripcionales maestros, dichos patrones se mantienen por señales del microambiente tumoral (actividad de vías de señalización) y la dinámica de estos estados celulares es regulada por el código de histonas (*writers*, *readers*, *erasers*) modulando así la expresión génica (Bradner et al., 2017).

En cáncer, estos patrones tejido – específicos se adquieren directamente con alteraciones a los reguladores maestros, o indirectamente en factores transcripcionales auxiliares (cofactores, reguladores de la cromatina, etc; (Bradner et al., 2017). Se ha planteado la hipótesis de la adicción oncogénica, en la cual es esencial que los tumores conserven las alteraciones que los originaron en un principio aun en estadios avanzados, debido a que algunas de estas alteraciones son sobre los programas transcripcionales de funciones celulares centrales; para esto se acuñó el término “adicción transcripcional” (Bradner et al., 2017).

El incremento en la tasa transcripcional (que se origina por la adicción transcripcional) conlleva un incremento en la tasa de recombinación, fenómeno llamado “Inestabilidad genómica asociada a la transcripción”, que cuando afecta a genes altamente transcritos, se generan patrones de lesiones tejido – específico (Boulianne & Feldhahn, 2017). Estos patrones pueden resultar benéficos para el tumor mediante la sobreexpresión de genes asociados a crecimiento tumoral, metástasis e inclusive la quimio – resistencia (Cruz-Ruiz et al., 2021).



Para CCR se han reportado diferentes factores transcripcionales con roles oncogénicos, entre ellos NF- $\kappa$ B, que regula la transcripción de genes asociados a la apoptosis y el crecimiento celular (Jana et al., 2017; Sheng et al., 2017), la EMT (Li et al., 2017) e inclusive la vía de Wnt/ $\beta$ -catenina (Eyre et al., 2019). Otro ejemplo de factor transcripcional oncogénico en CCR es CREB (cAMP Response Element Binding), responsable de la activación de KRAS asociado a proliferación, ciclo celular y resistencia a la apoptosis (Steven et al., 2015).

Se han reportado FTs (Factores Transcripcionales) que actúan como supresores tumorales en CCR; entre ellos se encuentra FOXO3 (Forkhead Box 3), el cual está sub – expresado en pacientes con CCR y está asociado a la progresión tumoral y si se expresa a una mejor prognosis (Bullock et al., 2013; Yu et al., 2021), e incluso es capaz de revertir el fenotipo de resistencia a 5-FU inhibiendo a la vía de Nrf2/TR1 (Liu et al., 2020). Otro ejemplo es RUNX3 (RUNT-associated transcription factor 3) uno de los blancos de la vía de TGF- $\beta$ , que se encuentra sub – expresado en pacientes con CCR (Y. Wu et al., 2021), y que es capaz de inducir la apoptosis (Kim et al., 2019), así como inhibir la metástasis, angiogénesis y *stemness* en CCR (Kim et al., 2016; Ram-Kim et al., 2020). Cabe resaltar que genes asociados a la vía de TGF- $\beta$  se encontraron enriquecidos en los resultados aquí presentados (**Fig.22**), por lo que se podría interpretar que estos procesos biológicos se encuentran inter – conectados y regulados por la ceRNet.

Para el nivel de componente celular de los mRNAs sobre - expresados (**Fig.23B**) se observó que el complejo protéico PcG (Polycomb Group) estaba altamente enriquecido. PcG es un grupo diverso de modificadores de la cromatina que se puede subdividir en dos grupos con actividades catalíticas diferentes pero asociadas al silenciamiento de genes: PCR1 y 2 (Polycomb Repressive Complex 1/2; Piunti & Shilatifard, 2021).

PCR1 es un grupo heterogéneo de complejos (definido por las subunidades que lo conforman) que cumplen diversas funciones; la subunidad encargada de la actividad catalítica es RING1A/B, la cual cuenta con una actividad de E3 – Ubiquitin ligasa (Scelfo et al., 2019). Por el otro lado, PCR2 es una metiltransferasa que actúa sobre H3Lys27 (mono-, bi- y tri – metilada), posee tres subunidades que ejercen la actividad catalítica EED, SUZ12 y EZH2 (Hsu et al., 2020). Estos complejos pueden regular múltiples procesos celulares, como la inactivación del cromosoma X, el ciclo celular e inclusive participan en diversos tipos de cáncer (Schuettengruber et al., 2017).

La desregulación de los complejos PcG resulta en ambientes epigenéticos aberrantes que favorecen la adquisición de Hallmarks del cáncer (Zhao & Wu, 2021). Por ejemplo, miembros del grupo PcG pueden participar en la proliferación (Hu et al., 2020; F. Wang et al., 2020), *stemness* (Ni et al., 2018), angiogénesis (Smits et al., 2010), invasión (Zheng et al., 2019) y metástasis (Federico et al., 2019). Demostrando así la importancia de estos complejos en diferentes tipos de cáncer.

Cuando se analizó a nivel de proceso biológico el enriquecimiento de los mRNAs sobre – expresados (**Fig.23C**), se observó que el proceso con un mayor número de genes alterados fue la regulación positiva de la angiogénesis. En la literatura se ha descrito que la angiogénesis consta de cuatro fases: 1) degradación de las proteínas de la membrana basal y la matriz extracelular por enzimas proteolíticas, 2) activación y migración de las células endoteliales, 3) proliferación de células endoteliales, y 4) la formación de una estructura cilíndrica y tubos capilares, formando nuevas membranas basales (Li et al., 2018).

Este proceso biológico normal se encuentra altamente regulado, y cuando se ve alterado se activa el llamado “interruptor angiogénico” definido como un desbalance entre los factores pro- y anti – angiogénicos (Cubillo et al., 2019), favoreciendo la angiogénesis aberrante. Actualmente se sabe que la angiogénesis es un proceso tan importante para el cáncer que ha sido definido como un Hallmark del cáncer (Hanahan & Weinberg, 2011).

Al analizar a todos los niveles (función molecular, componente celular y proceso biológico) los procesos biológicos enriquecidos, se resumen los principales procesos enriquecidos para los mRNAs sobre – expresados (**Fig.23D**). Entre los cuales se encuentran enriquecidos procesos relacionados con el fenotipo tumoral como son la migración celular, la producción a interleucina 2 y la actividad de la vía canónica de Wnt, una de las más importantes en CCR.

El siguiente paso fue analizar a los mismos niveles los procesos enriquecidos de los mRNAs sub – expresados (**Fig.24**), en la **Fig.24D** se aprecian los procesos más importantes observados a los diferentes niveles. A nivel de función molecular (**Fig.24A**) se observó que el proceso biológico con mayor enriquecimiento fue la actividad del canal de potasio de respuesta tardía.

Los canales de potasio con puerta regulada por voltaje de respuesta retardada (cKv) son complejos tetraméricos de unidades idénticas que actúan como una de las principales conductancias iónicas (facilidad que ofrece un material al paso de corriente eléctrica) en las células, regulando procesos como el potencial de membrana y secreción, tanto en células sanas como tumorales (Nilius & Wohlrab, 1992). Estos cKv se encuentran sobre – expresados en líneas

tumorales de estómago, y que participan en la proliferación mediante la regulación de entrada de  $Ca^{2+}$  (Lan et al., 2005).

Se ha reportado que los cKv están asociados con la capacidad migratoria e invasiva de las células tumorales (Park et al., 2021; Song et al., 2018). La sobre - expresión de Kv1.1 y Kv1.3 está asociada con una sensibilización de los tumores a diferentes citotoxinas, y una menor supervivencia celular (Leanza et al., 2014), de forma similar se ha visto que la expresión de KCNA1 favorece la senescencia inducida por oncogenes, y una disminución en la agresividad de células de cáncer de mama (Lallet-Daher et al., 2013).

Estos canales están cercanamente relacionados con la apoptosis (Teisseyre et al., 2015). Cuando se encuentran en la membrana plasmática se sobre - expresan en respuesta a la vía de la *caspasa-8*, generando un flujo de salida de iones K y un encogimiento celular (Storey et al., 2003), y cuando se encuentran en la mitocondria pueden ser bloqueados por Bax, favoreciendo la liberación del citocromo c y un incremento en la producción de ROS, para facilitar la despolarización de la membrana interna (Szabó et al., 2008). Los resultados reportados en este trabajo muestran que la actividad de la ceRNet participa puede regular la apoptosis, por lo descrito sobre los cKv que se pueden asociar con la membrana mitocondrial también observada enriquecida en el análisis GO a nivel de componente celular (**Fig.24B**).

El análisis GO a nivel de Proceso Biológico de los mRNAs sub - expresados (**Fig.24C**), mostró que el proceso con mayor enriquecimiento es la respuesta celular a estradiol. El estradiol es una hormona esteroidea con múltiples funciones. El Estradiol-17 $\beta$  (E2) es un esteroide de 18 carbonos con un anillo aromático que se sintetiza principalmente en el ovario y los testículos y representa la forma más activa del Estrógeno en el cuerpo humano (Wise et al., 2009).

Se ha descrito que el Estradiol posee dos formas de acción en el cuerpo: 1) Genómico, al interactuar con su receptor lo convierte en un FT y el complejo modula la expresión de muchos genes que poseen Elementos de Respuesta al Estradiol (ERE), y 2) No - genómico, donde induce la activación célula - específica de diversas vías de señalización como son ERK, PI3K/AKT, y MAPK (Kumar et al., 2018).

E2 juega un papel muy importante en diferentes tipos de cáncer. En cáncer de ovario se han reportado que puede participar en la aceleración de la progresión tumoral (Laviolette et al., 2014), se ha reportado asociado con tumores no serosos (Trabert et al., 2016), e inclusive si actúa desde la vía no-canónica, un rol protector incrementando la sensibilidad a la terapia (Hao

et al., 2019), para un reporte detallado consultar a Mungenast & Thalhammer (2014), y a Ribeiro & Freiman (2014).

En cáncer de mama se ha reportado que E2 juega una variedad de papeles pro – tumorales. Entre ellos, la proliferación (Sun et al., 2015; Yu et al., 2012), migración (Rodriguez et al., 2017), metástasis (Contreras-Zárate et al., 2019) e inclusive el mantenimiento de la *stemness* (Park et al., 2016). Para reportes más detallados consultar a Samavat & Kurzer (2015).

Para el CCR existen reportes diversos del efecto del estradiol. Dependiendo del receptor con el que interactúe E2, puede tener efectos opuestos: si interactúa con el receptor de Estrógeno  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) posee un papel tumorigénico activando la vía de Wnt (Liu et al., 2019), por el contrario, de interactuar con el receptor de Estrógeno  $\beta$  (ER $\beta$ ) posee un papel supresor tumoral (Hases et al., 2020). Sin embargo, generalmente se asume que E2 tiene un papel onco – protector en CCR (Hsu et al., 2012; Sasso et al., 2019), aunque de expresarse en etapas clínicas avanzadas puede favorecer el crecimiento tumoral (Chen & Iverson, 2012). Para lecturas más detalladas referirse a Barzi y colaboradores (2013).

El análisis GO de los mRNAs blancos de la ceRNet a nivel de proceso biológico (**Fig.24C**), mostró que la migración celular fue el proceso con mayor número de genes alterados (3 genes). La capacidad que tienen las células para migrar es uno de los procesos biológicos responsables de la correcta organización de los organismos multicelulares, y participa en procesos biológicos diversos como son la respuesta inmune, cierre de heridas y cuando se ve alterado participa en diferentes tipos de cáncer (Janiszewska et al., 2020).

Las células tumorales obtienen una mayor capacidad de invasión y metástasis en conjunto lo que les confiere múltiples ventajas: mantenimiento de la organización y cohesividad del tejido, la formación de gradientes de factores solubles y, la protección del clúster metastático del sistema inmune, entre otros (Treat et al., 2012).

La metástasis tiene diferentes pasos bien caracterizados: 1) una célula o un clúster de células se separa del tumor primario, 2) invaden los tejidos cercanos a través del estroma, 3) ingresan y se diseminan por los vasos sanguíneos y linfáticos, y 4) colonizan tejidos sanos distantes para formar tumores secundarios (Krakhmal et al., 2015). La metástasis es la principal causa de muerte asociada a cáncer (Novikov et al., 2021), y de esta forma es caracterizada como uno de los Hallmarks del cáncer (Hanahan & Weinberg, 2011).

A partir de los resultados del análisis GO para todos los mensajeros (**Fig.25**) que muestra el efecto acumulativo de los mRNAs blanco de la ceRNet obtenidos en las **Fig.23** y **Fig.24**. Se construyó la red de término – gen (**Fig.26**), donde se observó que los procesos biológicos no se encuentran tan inter – relacionados como en el caso de las vías KEGG.

Cabe resaltar que se encontraron varios factores transcripcionales con expresión diferencial, particularmente SOX4, MYBL2 y MYCN. *Sex – determining region Y – related high mobility group box 4* (SOX4) es un FT de 47kDa, que ha sido reportada como sobre – expresada en CCR y que promueve la proliferación, migración e invasión *in vitro* activando la EMT (B. Wang et al., 2016), otros autores reportan que el nivel de SOX4 se incrementa mediante la actividad de ZFAS1, favoreciendo la metástasis de células de CCR (Deng et al., 2021), e inclusive favorece la resistencia a la terapia (Pan et al., 2022). Por el contrario, cuando se inhibe la expresión de SOX4 se disminuye la progresión tumoral (Vishnubalaji et al., 2016; J. Zhao et al., 2018).

MYBL2 (B-MYB), es un gen de la familia MYB y se ha visto que participa activamente en la progresión tumoral de CCR. En CCR se encuentra sobre – expresado y asociado con una mala prognosis, al sub – expresarlo se disminuyó la proliferación, y hubo inducción de la apoptosis (Ren et al., 2015). Se ha propuesto que MYBL2 ejerce su función oncogénica mediante un bucle recíproco de trans – activación con E2F2, y que ambos participan en la activación de las vías de ERK y AKT en CCR (Fan et al., 2021). De la misma forma, B-MYB puede ejercer funciones oncogénicas como el reclutamiento de células inmunes al microambiente tumoral, e inclusive la regulación de *spliceosomas* y el ciclo celular (Chen et al., 2021).

MYCN es un proto – oncogén de la familia de FTs *hélix – loop – hélix – zipper* MYC, los cuales son maestros reguladores de procesos como proliferación, diferenciación e inclusive apoptosis mediante la integración de señales intra- e inter- celulares (Carroll et al., 2018). Este FT se encuentra sobre – expresado en cáncer de pulmón de células no – pequeñas, está asociado a una mala prognosis y regula positivamente el ciclo celular (Liu et al., 2016). En cáncer hepático MYCN se encuentra sobre – expresado y correlacionado positivamente con un fenotipo de *stemness* y un incremento en la actividad de la vía de WNT, y su silenciamiento mediado por un retinoide acíclico reprime la progresión a través del ciclo celular, la capacidad de formación de colonias y la inducción de la muerte celular (Qin et al., 2018). Para el caso de CCR se ha reportado que MYCN actúa como un oncogén regulado positivamente por CULB4, y que favorece la formación de esferoides, proliferación e inclusive la capacidad metastática

(Li et al., 2020). En combinación, estos resultados demuestran la regulación ejercida por la ceRNet sobre FTs y cómo pueden impactar estos en la obtención del fenotipo tumoral en CCR.

Se analizó la posible relevancia clínica de la expresión de los lncRNAs asociados a SCNAs, se apreció que tres lncRNAs tienen una correlación significativa con la supervivencia general de los pacientes, si existían diferencias por sexo y por estadio tumoral C5orf64 (**Fig.27, 28, 29**), HOTAIR (**Fig.30, 31, 32**) y RRN3P3 (**Fig.33, 34, 35**).

En el presente trabajo se encontró que una baja expresión de C5orf64 está asociado a una menor probabilidad de supervivencia y una proporción de riesgo mayor (**Fig.27**). En la literatura se ha reportado que C5orf64 se encuentra sub – expresado en muestras de pacientes con adenocarcinoma de pulmón (LUAD) y que puede servir como un marcador de mala prognosis, debido a su correlación con el estado mutacional de los pacientes (TP53) y con una correlación positiva con la vía PD1/PD-L1 (Pang et al., 2021), que es un *checkpoint* muy importante en el mecanismo de evasión del sistema inmune en los tumores (Jiang et al., 2021).

C5orf64 forma parte de un conjunto de lncRNAs asociados a ferroptosis, un tipo de muerte celular programada caracterizada por peroxidación dependiente de hierro, y una fuerte asociación con ácidos grasos oxidantes poli – insaturados, ROS y lipoperóxido (Perez et al., 2020), y que podrían ser utilizados como biomarcadores para la progresión en LUAD (Lu et al., 2021).

Al tomar en cuenta la supervivencia de los pacientes por sexo (**Fig.28**) se apreció que solo existen diferencias significativas entre los pacientes masculinos con baja expresión (la menor de todas) y los pacientes femeninos con alta expresión. Sin embargo, el resultado obtenido no demuestra una tendencia clara, por lo que es preciso incrementar el número de muestras para apreciar si existe diferencia significativa entre los sexos.

Posteriormente, se analizaron posibles diferencias en la supervivencia de los pacientes como resultado del estadio tumoral en el que se encontraban. Las muestras se agruparon en etapas tempranas (Estadio I y II) y etapas tardías (Estadio III y IV).

Para C5orf64 (**Fig.29**) se encontró que existen diferencias significativas entre los grupos de baja expresión, siendo menor cuando las muestras se encuentran en etapas tardías, de la misma forma entre los grupos de expresión alta, donde las muestras tardías muestran una peor probabilidad de supervivencia. Este resultando remarca el potencial de C5orf64 como

biomarcador, debido a que independientemente del estadio; existe una correlación significativa con la supervivencia de los pacientes.

Los resultados aquí obtenidos corresponden con lo que se sabe para C5orf64 en LUAD, y representan el primer reporte de expresión diferencial del largo, así como un posible papel de biomarcador en CCR gracias su correlación con la supervivencia de los pacientes. El AUC incrementó alimentando variables de relevancia clínica como es el sexo y el estadio clínico de los pacientes, sin embargo, aún resulta bajo para tener utilidad clínica. Por lo anterior es necesario incrementar el número de muestras con las que se realiza el análisis para mejorar el poder predictor del largo.

Se encontró que la sobre – expresión de HOTAIR (Hox transcript antisense intergenic RNA) está asociada a una peor probabilidad de supervivencia y un riesgo incrementado para los pacientes (**Fig.30**). Estos resultados concuerdan con lo que se ha reportado previamente ya que HOTAIR ha sido descrito como un oncogén por su consistente sobre – expresión en diferentes tipos de malignidades (e.g. mama, pulmón, vesícula, etc.) y su rol en procesos como la proliferación, migración, resistencia a la apoptosis, etc. (Rajagopal et al., 2020; Yu & Li, 2015).

Para CCR se ha reportado que un incremento en la expresión de HOTAIR está asociado con peores prognosis, y supervivencia libre de re – incidencia, así como con un incremento en la infiltración y en las metástasis distantes (Chen et al., 2020). Se sabe que HOTAIR se encuentra sobre – expresado tanto en tumor primario como en las muestras de sangre de los pacientes, y que esta correlación significativa está asociada con una mayor tasa de mortalidad y una prognosis desfavorable (Svoboda et al., 2014). Dependiendo del tipo de variable genética de HOTAIR el riesgo de prevalencia y mortalidad es diferente por genotipo (Syed Sameer et al., 2020; Xue et al., 2015); resaltando la importancia de los resultados obtenidos y la necesidad de continuar con las validaciones experimentales de HOTAIR y su papel en CCR.

Es bien sabido que HOTAIR ejerce muchas de funciones regulatorias a través de su dominio de interacción con PRC2 (Q. He et al., 2020); el cual se encontró enriquecido en los resultados presentados en este trabajo, por lo que podría existir una correlación entre ambos, y que este resultado corresponde con lo que se ha mencionado previamente en la literatura (Kogo et al., 2011).

Posteriormente se analizó el efecto del género sobre la supervivencia asociada a la expresión de HOTAIR (**Fig.31**). Se encontró que para el sexo masculino existen diferencias significativas en la supervivencia entre ambos grupos, donde una baja expresión esta correlacionada con una

baja probabilidad de supervivencia. Este resultado aparentemente contradictorio podría ser resultado de un seguimiento incompleto de los participantes originales del estudio, ya que se aprecia una súbita caída en la probabilidad de supervivencia. De esta manera no se puede concluir si el sexo tiene un efecto diferencial en la supervivencia de los pacientes.

Al tomar en cuenta el estadio clínico de los pacientes para las curvas de supervivencia de HOTAIR (**Fig.32**) se encontró que en los grupos de alta expresión existe diferencia significativa en la supervivencia de los pacientes. Aunque existe una tendencia apreciable, se propone incrementar el número de muestras y mejorar el seguimiento para incrementar la capacidad de biomarcador de HOTAIR en CCR.

El porcentaje de discriminación del AUC se considera como bajo, sin embargo, se propone complementar los análisis con otros sets de datos y con la implementación de otras variables de interés biológico para mejorar el poder de predicción de HOTAIR como marcador.

Se identificó que una baja expresión de RRN3P3 está correlacionada con una peor prognosis y un riesgo proporcional incrementado (**Fig.33**). Existe un reporte de RR3NP3 como parte de una firma de biomarcadores en cáncer de mama; los autores reportaron que RRN3P3 se encuentra sobre – expresado, asociado a una mala prognosis, correlacionado con el estadio clínico de los pacientes y asociado con vías de señalización pro – tumorales (Tan et al., 2021). Estos resultados contrastan con lo descrito en el presente trabajo, lo cual podría deberse a la diferencia en el tejido analizado.

De la misma forma, se ha reportado que algunos lncRNAs pueden tener funciones tanto oncogénicas como supresoras tumorales dependiendo del contexto (Ghafouri-Fard et al., 2020; Gu et al., 2021; Lagunas-Rangel, 2021), por lo que podría significar que RRN3P3 actúa como oncogén en cáncer de mama (como se ha reportado previamente) y como supresor tumoral en CCR, por lo que es necesario hacer la validación experimental del papel de este lncRNA. De la misma forma, se propone incrementar el número de muestras y la implementación para mejorar el poder de predicción del biomarcador.

Al tomar en cuenta el sexo de los pacientes, se observó que la probabilidad de supervivencia asociada a la expresión de RRN3P3 (**Fig.34**) es significativamente menor en el grupo masculino de baja expresión. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los demás grupos por lo que se concluye que el sexo no tiene un efecto significativo en la supervivencia de los pacientes.



De acuerdo con datos de Globocan (Sung et al., 2021), la incidencia y mortalidad de CCR a nivel mundial son mayores en hombres que en mujeres en todos los grupos de edad. De la misma forma, se ha reportado que las mujeres tienen una menor incidencia de adenomas (Hulterantz, 2021), y una mejor probabilidad de supervivencia (Y. Yang et al., 2017). Sin embargo, se ha reportado que en mujeres es más probable desarrollar un tumor del lado derecho los cuales son más difíciles de diagnosticar con las técnicas de detección temprana (S. E. Kim et al., 2015). Los resultados descritos aquí, mostraron que los lncRNAs asociados a SCNAs con potenciales roles de biomarcadores están asociados a una mejor prognosis en las mujeres, complementando lo reportado previamente en la literatura.

Se evaluó el efecto del estadio clínico de los pacientes sobre la probabilidad de supervivencia (**Fig.35**). Se apreció que existen diferencias significativas entre los grupos de estadios tardíos, donde se ve que el grupo de baja expresión presenta la peor probabilidad de supervivencia de todos los grupos. Además, las muestras de estadio tardío con alta expresión no presentaron diferencias significativas por lo que se puede concluir que la expresión de RRN3P3 posee un efecto protector incluso en etapas tardías.

En el presente trabajo se encontró que ErbB4 se encuentra sub – expresado, estos resultados corresponden con lo que se ha reportado en la literatura donde la pérdida de ErbB4 en muestras de pacientes con CCR está correlacionado con procesos inflamatorios crónicos que facilitan la progresión tumoral asociada a la inflamación (Ni et al., 2019). Por otra parte, se ha reportado que ErbB4 se encuentra sobre – expresado en líneas celulares de CCR y que esto se asocia con la progresión tumoral (C. S. Williams et al., 2015). De esta manera es necesario validar experimentalmente la expresión de este gen, y su rol en el fenotipo tumoral.

Gracias a que el presente trabajo constó de una aproximación completamente bioinformática se logró hacer un análisis exploratorio a gran escala para dilucidar los posibles papeles de los lncRNAs asociados a SCNAs en la adquisición del fenotipo tumoral en CCR. Sin embargo, esto representa también la principal limitación del trabajo al requerir que los resultados presentados aquí sean validados experimentalmente a todos los niveles: 1) expresión de los lncRNAs con qPCR, 2) SCNAs con secuenciación genómica, 3) interacciones lncRNA – miRNA con ensayos de luciferasa o RNA *pulldown*, 4) interacciones lncRNA – mRNA con ensayos CLIP, y 5) Ensayos funcionales para evaluar el impacto en la progresión tumoral. De la misma forma, otra limitación del trabajo fue que las conclusiones obtenidas se originan de un solo conjunto de datos, que podrían ser complementados con información de pacientes de diferentes

etnias o países enriqueciendo así los resultados aquí obtenidos. Se puede concluir que los lncRNAs asociados a SCNAs participan activamente en la adquisición del fenotipo tumoral en CCR mediante la formación de una ceRNet regulando procesos anti- y oncogénicos.

## **9. Conclusiones**

En el desarrollo de este trabajo, fue posible identificar 78 lncRNAs expresados diferencialmente y que se asocian a regiones genómicas con alteraciones al número de copias en las muestras de pacientes con CCR. Con estos, se construyó una ceRNet (DElncRNA-DEmiRNA-DEmRNA) que constó de 33 DElncRNAs, 19 DEmiRNAs y 76 DEmRNAs, la cual enriquece procesos biológicos y vías de señalización de relevancia tumoral. Además, se reportó que tres de los DElncRNAs (C5orf64, HOTAIR y RRN3P3) asociados a la ceRNet tienen relevancia clínica, puesto que su patrón de expresión diferencial tiene correlación significativa con la prognosis de los pacientes. Los resultados obtenidos sugieren fuertemente que el grupo de lncRNAs codificados en regiones genómicas con alteraciones al número de copias tienen participación en la adquisición del fenotipo tumoral en CCR.

## 10. Referencias Bibliográficas

1. Alam, T., Medvedeva, Y. A., Jia, H., Brown, J. B., Lipovich, L., & Bajic, V. B. (2014). Promoter Analysis Reveals Globally Differential Regulation of Human Long Non-Coding RNA and Protein-Coding Genes. *PLOS ONE*, 9(10), e109443. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0109443>
2. Al-Maghrabi, J. A. (2020). Loss of expression of Syndecan-1 is associated with Tumor Recurrence, Metastatic Potential, and Poor Survival in patients with Colorectal carcinoma. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 37(1), 1–7. <https://doi.org/10.12669/pjms.37.1.2592>
3. Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M., & Warusavitarne, J. (2012). Molecular pathways in colorectal cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 27(9), 1423–1431. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1746.2012.07200.X>
4. Andrews, S. J., & Rothnagel, J. A. (2014). Emerging evidence for functional peptides encoded by short open reading frames. *Nature Reviews Genetics* 2014 15:3, 15(3), 193–204. <https://doi.org/10.1038/nrg3520>
5. Andric, V., Nevers, A., Hazra, D., Auxilien, S., Menant, A., Graille, M., Palancade, B., & Rougemaille, M. (2021). A scaffold lncRNA shapes the mitosis to meiosis switch. *Nature Communications* 2021 12:1, 12(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21032-7>
6. Ashworth, A., Lord, C. J., & Reis-Filho, J. S. (2011). *Leading Edge Perspective Genetic Interactions in Cancer Progression and Treatment*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.03.020>
7. Bai, J., Xu, J., Zhao, J., & Zhang, R. (2020). LncRNA NBR2 suppresses migration and invasion of colorectal cancer cells by downregulating miRNA-21. *Human Cell*, 33(1), 98–103. <https://doi.org/10.1007/s13577-019-00265-1>
8. Bailey, C. E., Hu, C.-Y., You, Y. N., Bednarski, B. K., Rodriguez-Bigas, M. A., Skibber, J. M., Cantor, S. B., & Chang, G. J. (2015). Increasing Disparities in the Age-Related Incidences of Colon and Rectal Cancers in the United States, 1975-2010. *JAMA Surgery*, 150(1), 17. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2014.1756>
9. Bartel, D. P. (2018). Metazoan MicroRNAs. *Cell*, 173(1), 20–51. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.03.006>
10. Barzi, A., Medea Lenz, A., Labonte, M. J., & Lenz, H.-J. (2013). Molecular Pathways: Estrogen Pathway in Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res*, 19(21). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0325>
11. Begus-Nahrmann, Y., Hartmann, D., Kraus, J., Eshraghi, P., Scheffold, A., Grieb, M., Rasche, V., Schirmacher, P., Lee, H.-W., Kestler, H. A., Lechel, A., & Rudolph, K. L. (2021). Transient telomere dysfunction induces chromosomal instability and promotes carcinogenesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(1). <https://doi.org/10.1172/JCI145852>
12. Ben-David, U., & Amon, A. (2020a). Context is everything: aneuploidy in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 21(1), 44–62. <https://doi.org/10.1038/S41576-019-0171-X>
13. Ben-David, U., & Amon, A. (2020b). Context is everything: aneuploidy in cancer. *Nature Reviews Genetics*, 21(1), 44–62. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0171-x>
14. Beroukhi, R., Mermel, C. H., Porter, D., Wei, G., Raychaudhuri, S., Donovan, J., Barretina, J., Boehm, J. S., Dobson, J., Urashima, M., Mc Henry, K. T., Pinchback, R. M., Ligon, A. H., Cho, Y.-J., Haery, L., Greulich, H., Reich, M., Winckler, W., Lawrence, M. S., ... Meyerson, M. (2010). The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*, 463(7283), 899–905. <https://doi.org/10.1038/nature08822>
15. Bettington, M., Walker, N., Clouston, A., Brown, I., Leggett, B., & Whitehall, V. (2013). The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology*, 62(3), 367–386. <https://doi.org/10.1111/HIS.12055>
16. Biermann, M., Maueröder, C., Brauner, J. M., -al, Shi, M., Cao, X., Zhuang, J., Janko, C., & Jeremic, I. (2016). Apoptosis: its origin, history, maintenance and the medical implications for cancer and aging. *Physical Biology*, 13(3), 031001. <https://doi.org/10.1088/1478-3975/13/3/031001>
17. Boulianne, B., & Feldhahn, N. (2017). Transcribing malignancy: transcription-associated genomic instability in cancer. *Oncogene* 2018 37:8, 37(8), 971–981. <https://doi.org/10.1038/onc.2017.402>
18. Bradner, J. E., Hnisz, D., & Young, R. A. (2017). Transcriptional Addiction in Cancer. *Cell*, 168(4), 629–643. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.013>
19. Brenner, H., Kloor, M., & Pox, C. P. (2014). Colorectal cancer. *The Lancet*, 383, 1490–1502. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61649-9](https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61649-9)
20. Bullock, M. D., Bruce, A., Sreekumar, R., Curtis, N., Cheung, T., Reading, I., Primrose, J. N., Ottensmeier, C., Packham, G. K., Thomas, G., & Mimezami, A. H. (2013). FOXO3 expression during colorectal cancer progression: biomarker potential reflects a tumour suppressor role. *British Journal of Cancer*, 109(2), 387–394. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.355>
21. Cai, C., Huo, Q., Wang, X., Chen, B., & Yang, Q. (2017). SNHG16 contributes to breast cancer cell migration by competitively binding miR-98 with E2F5. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 485(2), 272–278. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2017.02.094>
22. Cai, H., Zheng, Y., Wen, Z., Yang, Y., Yang, S., & Zhang, Q. (2021). LncRNA AIRN influences the proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by regulating STAT1 ubiquitination. *Archives of Pharmacal Research*, 44(4), 414–426. <https://doi.org/10.1007/S12272-021-01317-7/FIGURES/7>
23. Calcinotto, A., Kohli, J., Zagato, E., Pellegrini, L., Demaria, M., & Alimonti, A. (2019). Cellular senescence: Aging, cancer, and injury. *Physiological Reviews*, 99(2), 1047–1078. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00020.2018/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9J0011928990006.JPEG>
24. Camps, J., Pitt, J. J., Emons, G., Hummon, A. B., Case, C. M., Grade, M., Jones, T. L., Nguyen, Q. T., Ghadimi, B. M., Beissbarth, T., Difilippantonio, M. J., Caplen, N. J., & Ried, T. (2013). Genetic amplification of the NOTCH modulator LNX2 upregulates the WNT/β-catenin pathway in colorectal cancer. *Cancer Research*, 73(6), 2003. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3159>
25. Cao, Z., Zhao, T., Wang, L., Han, J., Chen, J., Hao, Y., & Guan, X. (2021). The lincRNA XH123 is involved in cotton cold-stress regulation. *Plant Molecular Biology*, 106(6), 521–531. <https://doi.org/10.1007/S11103-021-01169-1/FIGURES/5>
26. Carlevaro-Fita, J., & Johnson, R. (2019). Molecular Cell Review Global Positioning System: Understanding Long Noncoding RNAs through Subcellular Localization. *Molecular Cell*, 73, 869–883. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.02.008>
27. Carroll, P. A., Freie, B. W., Mathsyaraja, H., & Eisenman, R. N. (2018). The MYC transcription factor network: balancing metabolism, proliferation and oncogenesis. *Frontiers of Medicine*, 12(4), 412–425. <https://doi.org/10.1007/s11684-018-0650-z>
28. Chen, G. Q., Liao, Z. M., Liu, J., Li, F., Huang, D., & Zhou, Y. D. (2021). LncRNA FTX Promotes Colorectal Cancer Cells Migration and Invasion by miRNA-590-5p/RBPJ Axis. *Biochemical Genetics*, 59(2), 560–573. <https://doi.org/10.1007/S10528-020-10017-8>
29. Chen, H., & Boutros, P. C. (2011). VennDiagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 35. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-35>
30. Chen, J., & Iverson, D. (2012). Estrogen in obesity-associated colon cancer: friend or foe? Protecting postmenopausal women but promoting late-stage colon cancer. *Cancer Causes & Control: CCC*, 23(11), 1767–1773. <https://doi.org/10.1007/s10552-012-0066-z>

31. Chen, J., Lin, Y., Jia, Y., Xu, T., Wu, F., & Jin, Y. (2019). LncRNA HAND2-AS1 exerts anti-oncogenic effects on ovarian cancer via restoration of BCL2L1 as a sponge of microRNA-340-5p. *Journal of Cellular Physiology*, 234(12), 23421–23436. <https://doi.org/10.1002/JCP.28911>
32. Chen, J., Song, Y., Li, M., Zhang, Y., Lin, T., Sun, J., Wang, D., Liu, Y., Guo, J., & Yu, W. (2021). Comprehensive analysis of ceRNA networks reveals prognostic lncRNAs related to immune infiltration in colorectal cancer. *BMC Cancer*, 21(1), 255. <https://doi.org/10.1186/s12885-021-07995-2>
33. Chen, S., Zhang, C., & Feng, M. (2020). Prognostic value of lncRNA HOTAIR in colorectal cancer: A meta-analysis. *Open Medicine (Poland)*, 15(1), 76–83. <https://doi.org/10.1515/MED-2020-0012/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
34. Chen, X., Lu, Y., Yu, H., Du, K., Zhang, Y., Nan, Y., & Huang, Q. (2021). Pan-cancer analysis indicates that MYBL2 is associated with the prognosis and immunotherapy of multiple cancers as an oncogene. *Cell Cycle*, 20(21), 2291–2308. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1982494>
35. Chen, Y., & Wang, X. (2020). miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D127–D131. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz757>
36. Cheng, J., Guo, J. M., Xiao, B. X., Miao, Y., Jiang, Z., Zhou, H., & Li, Q. N. (2011). piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clinica Chimica Acta*, 412(17–18), 1621–1625. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2011.05.015>
37. Choi, E. H., & Kim, K. P. (2019). E2F1 facilitates DNA break repair by localizing to break sites and enhancing the expression of homologous recombination factors. *Experimental & Molecular Medicine* 2019 51:9, 51(9), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s12276-019-0307-2>
38. Colaprico, A., Silva, T. C., Olsen, C., Garofano, L., Cava, C., Garolini, D., Sabedot, T. S., Malta, T. M., Pagnotta, S. M., Castiglioni, I., Ceccarelli, M., Bontempi, G., & Noushmehr, H. (2016a). TCGAAbiolinks: an R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Research*, 44(8), e71–e71. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV1507>
39. Colaprico, A., Silva, T. C., Olsen, C., Garofano, L., Cava, C., Garolini, D., Sabedot, T. S., Malta, T. M., Pagnotta, S. M., Castiglioni, I., Ceccarelli, M., Bontempi, G., & Noushmehr, H. (2016b). TCGAAbiolinks: an R/Bioconductor package for integrative analysis of TCGA data. *Nucleic Acids Research*, 44(8), e71–e71. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV1507>
40. Contreras-Zárate, M. J., Day, N. L., Ormond, D. R., Borges, V. F., Tobet, S., Gril, B., Steeg, P. S., & Cittelly, D. M. (2019). Estradiol induces BDNF/TrkB signaling in triple-negative breast cancer to promote brain metastases. *Oncogene*, 38(24), 4685–4699. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0756-z>
41. Costigan, D. C., & Dong, F. (2020). The extended spectrum of RAS-MAPK pathway mutations in colorectal cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 59(3), 152–159. <https://doi.org/10.1002/gcc.22813>
42. Cruz-Ruiz, S., Urióstegui-Arcos, M., & Zurita, M. (2021). The transcriptional stress response and its implications in cancer treatment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 1876(2), 188620. <https://doi.org/10.1016/J.BBRCAN.2021.188620>
43. Cubillo, A., Álvarez-Gallego, R., Muñoz, M., Pond, G., Perea, S., Sánchez, G., Martín, M., Rodríguez-Pascual, J., Garralda, E., Vega, E., de Vicente, E., Quijano, Y., Muñoz, C., Ugidos, L., Toledo, R. A., & Hidalgo, M. (2019). Dynamic angiogenic switch as predictor of response to chemotherapy-bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer. *American Journal of Clinical Oncology: Cancer Clinical Trials*, 42(1), 56–59. <https://doi.org/10.1097/COC.0000000000000474>
44. Czabotar, P. E., Lessene, G., Strasser, A., & Adams, J. M. (2013). Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2014 15:1, 15(1), 49–63. <https://doi.org/10.1038/nrm3722>
45. Dai, W., Rao, C. v., Yamada, H. Y., Yao, Y., Wang, X., Zhang, Y., & Huang, Y. (2012). Haploinsufficiency of SGO1 results in deregulated centrosome dynamics, enhanced chromosomal instability and colon tumorigenesis. *Cell Cycle*, 11, 479–488. <https://doi.org/10.4161/cc.11.3.18994>
46. David, L., Huber, W., Granovskaia, M., Toedling, J., Palm, C. J., Bofkin, L., Jones, T., Davis, R. W., & Steinmetz, L. M. (2006). A high-resolution map of transcription in the yeast genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(14), 5320–5325. <https://doi.org/10.1073/PNAS.06010911103>
47. de Wit, M., Carvalho, B., Delis-Van Diemen, P. M., van Alphen, C., Beliën, J. A. M., Meijer, G. A., & Fijneman, R. J. A. (2017). Lumican and versican protein expression are associated with colorectal adenoma-to-carcinoma progression. *PloS One*, 12(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0174768>
48. Dekker, E., Tanis, P. J., Vleugels, J. L. A., Kasi, P. M., & Wallace, M. B. (2019). Colorectal cancer. *The Lancet*, 394(10207), 1467–1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32319-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32319-0)
49. Deng, H., Wang, M., Xu, Q., & Yao, H. (2021). ZFAS1 Promotes Colorectal Cancer Metastasis Through Modulating miR-34b/SOX4 Targeting. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 79(2), 387–396. <https://doi.org/10.1007/s12013-021-00976-z>
50. Dientsmann, R., Vermeulen, L., Guinney, J., Kopetz, S., Tejpar, S., & Tabernero, J. (2017). Consensus molecular subtypes and the evolution of precision medicine in colorectal cancer. *Nature Reviews Cancer*, 17, 70–92. <https://www.nature.com/articles/nrc.2016.126.pdf>
51. Ding, X., Zhang, Y., Yang, H., Mao, W., Chen, B., Yang, S., Ding, X., Zou, D., Mo, W., He, X., & Zhang, X. (2017). Long non-coding RNAs may serve as biomarkers in breast cancer combined with primary lung cancer. *Oncotarget*, 8(35), 58210. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.17356>
52. Dominic, J. L., Feroz, S. H., Muralidharan, A., Ahmed, A., & Thirunavukarasu, P. (2020). Aberrant Partial Chromosomal Instability With Chemotherapeutically Resistant Metachronous Colorectal Cancer Following a Synchronous Primary Colorectal Cancer: A Case Report. *Cureus*, 12(11). <https://doi.org/10.7759/cureus.11308>
53. Dong, P., Xiong, Y., Yue, J., Hanley, S. J. B., Kobayashi, N., Todo, Y., & Watari, H. (2018). Long non-coding RNA NEAT1: A novel target for diagnosis and therapy in human tumors. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 9, Issue OCT, p. 471). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00471>
54. Durinck, S., Moreau, Y., Kasprzyk, A., Davis, S., De Moor, B., Brazma, A., & Huber, W. (2005). BioMart and Bioconductor: a powerful link between biological databases and microarray data analysis. *Bioinformatics*, 21(16), 3439–3440. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti525>
55. el Bali, M., Bakkach, J., & Bennani Mechita, M. (2021). Colorectal Cancer: From Genetic Landscape to Targeted Therapy. *Journal of Oncology*, 2021, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2021/9918116>
56. Enuka, Y., Lauriola, M., Feldman, M. E., Sas-Chen, A., Ulitsky, I., & Yarden, Y. (2016). Circular RNAs are long-lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor. *Nucleic Acids Research*, 44(3), 1370–1383. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKV1367>
57. Ertosun, M. G., Hapil, F. Z., & Osman Nidai, O. Z. E. S. (2016). E2F1 transcription factor and its impact on growth factor and cytokine signaling. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 31, 17–25. <https://doi.org/10.1016/J.CYTOGFR.2016.02.001>
58. Eyre, R., Alférez, D. G., Santiago-Gómez, A., Spence, K., Mcconnell, J. C., Hart, C., Simões, B. M., Lefley, D., Tulotta, C., Storer, J., Gurney, A., Clarke, N., Brown, M., Howell, S. J., Sims, A. H., Farnie, G., Ottewell, P. D., & Clarke, R. B. (2019). Microenvironmental

- IL1 $\beta$  promotes breast cancer metastatic colonisation in the bone via activation of Wnt signalling. *Nature Communications*, 10(5016). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12807-0>
59. Falaleeva, M., & Stamm, S. (2013). Processing of snoRNAs as a new source of regulatory non-coding RNAs. *BioEssays*, 35(1), 46–54. <https://doi.org/10.1002/BIES.201200117>
  60. Fan, X., Wang, Y., Jiang, T., Liu, T., Jin, Y., Du, K., Niu, Y., Zhang, C., Liu, Z., Lei, Y., & Bu, Y. (2021). B-Myb accelerates colorectal cancer progression through reciprocal feed-forward transactivation of E2F2. *Oncogene*, 40(37), 5613–5625. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01961-9>
  61. Fang, Z., Lin, M., Li, C., Liu, H., & Gong, C. (2020). A comprehensive review of the roles of E2F1 in colon cancer. *Am J Cancer Res*, 10(3), 757–768. [www.ajcr.us/](http://www.ajcr.us/)
  62. Federico, A., Sepe, R., Cozzolino, F., Piccolo, C., Iannone, C., Iacobucci, I., Pucci, P., Monti, M., & Fusco, A. (2019). The complex CBX7-PRMT1 has a critical role in regulating E-cadherin gene expression and cell migration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1862(4), 509–521. <https://doi.org/10.1016/j.BBAGRM.2019.02.006>
  63. Feretzaki, M., Pospisilova, M., Valador Fernandes, R., Lunardi, T., Krejci, L., & Lingner, J. (2020). RAD51-dependent recruitment of TERRA lncRNA to telomeres through R-loops. *Nature* 2020 587:7833, 587(7833), 303–308. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2815-6>
  64. Franch-Expósito, S., Bassaganyas, L., Vila-Casadesús, M., Hernández-Illán, E., Esteban-Fabro, R., Díaz-Gay, M., Lozano, J. J., Castells, A., Llovet, J. M., Castellví-Bel, S., & Camps, J. (2020). CNApp, a tool for the quantification of copy number alterations and integrative analysis revealing clinical implications. *ELife*, 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.50267>
  65. Gao, R., Davis, A., McDonald, T. O., Sei, E., Shi, X., Wang, Y., Tsai, P.-C., Casasent, A., Waters, J., Zhang, H., Meric-Bernstam, F., Michor, F., & Navin, N. E. (2016). Punctuated copy number evolution and clonal stasis in triple-negative breast cancer. *Nature Genetics*, 48(10), 1119–1130. <https://doi.org/10.1038/ng.3641>
  66. Gentleman, R. C., Carey, V. J., Bates, D. M., Bolstad, B., Dettling, M., Dudoit, S., Ellis, B., Gautier, L., Ge, Y., Gentry, J., Hornik, K., Hothorn, T., Huber, W., Iacus, S., Irizarry, R., Leisch, F., Li, C., Maechler, M., Rossini, A. J., ... Zhang, J. (2004). Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biology*, 5(10), R80. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-10-r80>
  67. Ghafouri-Fard, S., Dashti, S., Taheri, M., & Omrani, M. D. (2020). TINCR: An lncRNA with dual functions in the carcinogenesis process. *Non-Coding RNA Research*, 5(3), 109–115. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2020.06.003>
  68. Godinho, S. A., & Pellman, D. (2014). Causes and consequences of centrosome abnormalities in cancer. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences*, 369. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0467>
  69. Gu, X., Chu, Q., Zheng, Q., Wang, J., & Zhu, H. (2021). The dual functions of the long noncoding RNA CASC15 in malignancy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 135, 111212. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111212>
  70. Gu, Z., Eils, R., & Schlesner, M. (2016). Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. *Bioinformatics*, 32(18), 2847–2849. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw313>
  71. Guenzl, P. M., & Barlow, D. P. (2012). RNA Biology Macro lncRNAs A new layer of cis-regulatory information in the mammalian genome. *RNA Biology*, 731(6), 731–741. <https://doi.org/10.4161/rna.19985>
  72. Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reyniès, A., Schlicker, A., Song, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G., Angelino, P., Bot, B. M., Morris, J. S., Simon, I. M., Gerster, S., Fessler, E., de Sousa .E Melo, F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., ... Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine*, 21(11), 1350–1356. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>
  73. Guo, L., Yang, G., Kang, Y., Li, S., Duan, R., Shen, L., Jiang, W., Qian, B., Yin, Z., & Liang, T. (2020). Construction and Analysis of a ceRNA Network Reveals Potential Prognostic Markers in Colorectal Cancer. *Frontiers in Genetics*, 11, 418. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00418>
  74. Hanahan, D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discovery*, 12(1), 31–46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
  75. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The Hallmarks of Cancer. *Cell*, 100(1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
  76. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
  77. Hanif Malgundkar, S., Burney, I., al Moundhri, M., al Kalbani, M., Lakhtakia, R., Okamoto, A., & Tamimi, Y. (2021). E2F5 Promotes the Malignancy of Ovarian Cancer Via the Regulation of Hippo and Wnt Pathways. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 25(3), 179–186. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0166>
  78. Hao, D., Li, J., Wang, J., Meng, Y., Zhao, Z., Zhang, C., Miao, K., Deng, C., Tsang, B. K., Wang, L., & Lijun, D. (2019). Non-classical estrogen signaling in ovarian cancer improves chemo-sensitivity and patients outcome. *Theranostics*, 9(13), 3952–3965. <https://doi.org/10.7150/THNO.30814>
  79. Harbers, L., Agostini, F., Nicos, M., Poddighe, D., Bienko, M., & Crosetto, N. (2021). Somatic Copy Number Alterations in Human Cancers: An Analysis of Publicly Available Data From The Cancer Genome Atlas. *Frontiers in Oncology*, 11, 2877. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.700568>
  80. Harrel, F. E., & Dupont, C. (2021, August 13). *Hmisc: Harrel Miscellaneous R Package*. <https://cran.r-project.org/package=Hmisc>.
  81. Hases, L., Indukuri, R., Birgersson, M., Nguyen-Vu, T., Lozano, R., Saxena, A., Hartman, J., Frasier, J., Gustafsson, J.-Å., Katajisto, P., Archer, A., & Williams, C. (2020). Intestinal estrogen receptor beta suppresses colon inflammation and tumorigenesis in both sexes. *Cancer Letters*, 492, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.06.021>
  82. He, C., Fu, Y., Chen, Y., & Li, X. (2021). Long non-coding RNA SNHG8 promotes autophagy as a ceRNA to upregulate ATG7 by sponging microRNA-588 in colorectal cancer. *Oncology Letters*, 22(2), 577. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12838>
  83. He, Q., Long, J., Yin, Y., Li, Y., Lei, X., Li, Z., & Zhu, W. (2020). Emerging Roles of lncRNAs in the Formation and Progression of Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01542>
  84. Helderman, N. C., Bajwa - ten Broeke, S. W., Morreau, H., Suerink, M., Terlouw, D., van der Werf- t Lam, A.-S., van Wezel, T., & Nielsen, M. (2021). The diverse molecular profiles of lynch syndrome-associated colorectal cancers are (highly) dependent on underlying germline mismatch repair mutations. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 163, 103338. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2021.103338>
  85. Hosmer, D. W., Lemeshow, S., & Sturdivant, R. X. (2013). *Applied Logistic Regression*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118548387>
  86. Hou, L., Liu, P., & Zhu, T. (2020). Long noncoding RNA SLC30A10 promotes colorectal tumor proliferation and migration via miR-21c/APC axis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(12), 6682–6691. [https://doi.org/10.26355/EURREV\\_202006\\_21655](https://doi.org/10.26355/EURREV_202006_21655)

87. Hsu, H. H., Liu, C. J., Shen, C. Y., Chen, Y. J., Chen, L. M., Kuo, W. H., Lin, Y. M., Chen, R. J., Tsai, C. H., Tsai, F. J., & Huang, C. Y. (2012). p38 $\alpha$  MAPK mediates 17 $\beta$ -estradiol inhibition of MMP-2 and -9 expression and cell migration in human lovo colon cancer cells. *Journal of Cellular Physiology*, 227(11), 3648–3660. <https://doi.org/10.1002/JCP.24072>
88. Hsu, J. H. R., Rasmussen, T., Robinson, J., Pachi, F., Read, J., Kawatkar, S., O' Donovan, D. H., Bagal, S., Code, E., Rawlins, P., Argyrou, A., Tomlinson, R., Gao, N., Zhu, X., Chiarparin, E., Jacques, K., Shen, M., Woods, H., Bednarski, E., ... Bloecher, A. (2020). EED-Targeted PROTACs Degrade EED, EZH2, and SUZ12 in the PRC2 Complex. *Cell Chemical Biology*, 27(1), 41–46.e17. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMBIOL.2019.11.004>
89. Hu, C., Zhang, Q., Tang, Q., Zhou, H., Liu, W., Huang, J., Liu, Y., Wang, Q., Zhang, J., Zhou, M., Sheng, F., Lai, W., Tian, J., Li, G., & Zhang, R. (2020). CBX4 promotes the proliferation and metastasis via regulating BMI-1 in lung cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(1), 618–631. <https://doi.org/10.1111/JCMM.14771>
90. Huang, H.-Y., Lin, Y.-C.-D., Li, J., Huang, K.-Y., Shrestha, S., Hong, H.-C., Tang, Y., Chen, Y.-G., Jin, C.-N., Yu, Y., Xu, J.-T., Li, Y.-M., Cai, X.-X., Zhou, Z.-Y., Chen, X.-H., Pei, Y.-Y., Hu, L., Su, J.-J., Cui, S.-D., ... Huang, H.-D. (2019). miRTarBase 2020: updates to the experimentally validated microRNA–target interaction database. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D148–D154. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz896>
91. Huarte, M. (2015). *The emerging role of lncRNAs in cancer*. <https://doi.org/10.1038/nm.3981>
92. Hultcrantz, R. (2021). Aspects of colorectal cancer screening, methods, age and gender. In *Journal of Internal Medicine* (Vol. 289, Issue 4, pp. 493–507). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/joim.13171>
93. Huo, T., Canepa, R., Sura, A., Modave, F., & Gong, Y. (2017). Colorectal cancer stages transcriptome analysis. *PLOS ONE*, 12(11), e0188697. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0188697>
94. Inagaki, Y., Wu, D., Fujiwara, K., Ishizuka, Y., Oguni, A., Tokinaga, T., Takayama, T., Soma, M., Fukida, N., Ozaki, T., & Masuda, S. (2020). Knockdown of E2F5 induces cell death via the TP53-dependent pathway in breast cancer cells carrying wild-type TP53. *Oncology Reports*, 44, 2241–2252. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7761>
95. Inoue, J., & Inazawa, J. (2021). Cancer-associated miRNAs and their therapeutic potential. *Journal of Human Genetics*, 66(9), 937–945. <https://doi.org/10.1038/S10038-021-00938-6>
96. Iozzo, R. v., & Schaefer, L. (2015). Proteoglycan form and function: A comprehensive nomenclature of proteoglycans. *Matrix Biology*, 42, 11–55. <https://doi.org/10.1016/J.MATBIO.2015.02.003>
97. Jana, A., Krett, N. L., Guzman, G., Khalid, A., Ozden, O., Staudacher, J. J., Bauer, J., Baik, S. H., Carroll, T., Yazici, C., & Jung, B. (2017). NFkB is essential for activin-induced colorectal cancer migration via upregulation of PI3K-MDM2 pathway. *Oncotarget*, 8(23), 37377–37393. [www.impactjournals.com/oncotarget](http://www.impactjournals.com/oncotarget)
98. Janiszewska, M., Primi, M. C., & Izard, T. (2020). Cell adhesion in cancer: Beyond the migration of single cells. *Journal of Biological Chemistry*, 295(8), 2495–2505. <https://doi.org/10.1074/JBC.REV119.007759>
99. Jarroux, J., Morillon, A., & Pinskaya, M. (2017). History, Discovery, and Classification of lncRNAs. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1008, pp. 1–46). Springer New York LLC. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_1)
100. Jeggari, A., Marks, D. S., & Larsson, E. (2012). miRcode: a map of putative microRNA target sites in the long non-coding transcriptome. *Bioinformatics*, 28(15), 2062–2063. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts344>
101. Jia, L., Wang, Y., Wang, C., Du, Z., Zhang, S., Wen, X., Zhou, L., Li, H., Chen, H., Li, D., Zhang, S., Li, W., Xu, W., Hoffman, A. R., Cui, J., & Hu, J. F. (2020). Oplrl6 serves as a novel chromatin factor to control stem cell fate by modulating pluripotency-specific chromosomal looping and TET2-mediated DNA demethylation. *Nucleic Acids Research*, 48(7), 3935–3948. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAA097>
102. Jia, X., Shi, Y., Zhu, Y., Meng, W., He, L., Jia, Y., & Tong, Z. (2020). Integrated Analysis of mRNA–miRNA–lncRNA ceRNA Network in Human HR+/Her-2– Breast Cancer and Triple Negative Breast Cancer. <https://Home.Liebertpub.Com/Cmb>, 27(7), 1055–1066. <https://doi.org/10.1089/CMB.2019.0152>
103. Jiang, C., Li, Y., Zhao, Z., Lu, J., Chen, H., Ding, N., Wang, G., Xu, J., Li, X., Jiang, C., Li, Y., Zhao, Z., Lu, J., Chen, H., Ding, N., Wang, G., Xu, J., & Li, X. (2016). Identifying and functionally characterizing tissue-specific and ubiquitously expressed human lncRNAs. *Oncotarget*, 7(6), 7120–7133. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.6859>
104. Jiang, M.-C., Ni, J.-J., Cui, W.-Y., Wang, B.-Y., & Zhuo, W. (2019). Emerging roles of lncRNA in cancer and therapeutic opportunities. *American Journal of Cancer Research*, 9(7), 1354. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36682721/>
105. Jiang, W., Pan, S., Chen, X., Wang, Z., & Zhu, X. (2021). The role of lncRNAs and circRNAs in the PD-1/PD-L1 pathway in cancer immunotherapy. *Molecular Cancer*, 20(1), 116. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01406-7>
106. Jiménez-Badillo, S. E., Oviedo, N., Hernández-Guzmán, C., González-Mariscal, L., & Hernández-Sánchez, J. (2017). Catsper1 promoter is bidirectional and regulates the expression of a novel lncRNA. *Scientific Reports* 2017 7:1, 7(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13867-2>
107. Jin, J., Du, M., Wang, J., Guo, Y., Zhang, J., Zuo, H., Hou, Y., Wang, S., Lv, W., Bai, W., Wang, J., Zhan, X., Peng, Y., Tong, Q., Chai, J., Xu, Z., & Zuo, B. (2022). Conservative analysis of Synaptopodin-2 intron sense-overlapping lncRNA reveals its novel function in promoting muscle atrophy. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 13(4), 2017–2030. <https://doi.org/10.1002/JCSM.13012>
108. Kalla, R., Ventham, N. T., Kennedy, N. A., Quintana, J. F., Nimmo, E. R., Buck, A. H., & Satsangi, J. (2015). MicroRNAs: new players in IBD. *Gut*, 504–517. <https://gut.bmj.com/content/gutjnl/64/3/504.full.pdf>
109. Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. In *Nucleic Acids Research* (Vol. 28, Issue 1). <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
110. Karlsson, O., & Baccarelli, A. A. (2016). Environmental Health and Long Non-coding RNAs. *Current Environmental Health Reports*, 3, 178–187. <https://doi.org/10.1007/s40572-016-0092-1>
111. Karmakar, D., Maity, J., Mondal, P., Chowdhury, P. S., Sikdar, N., Karmakar, P., Das, C., & Sengupta, S. (2020). E2F5 promotes prostate cancer cell migration and invasion through regulation of TFPI2, MMP-2 and MMP-9. *Carcinogenesis*, 41(12), 1767–1780. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgaa043>
112. Kashyap, D., Garg, V. K., & Goel, N. (2021). Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: Role in cancer development and prognosis. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 125, 73–120. <https://doi.org/10.1016/BS.APCSB.2021.01.003>
113. Kassambara, A., Kosinski, M., Biecek, P., & Fabian, S. (2021). *survminer: Drawing Survival Curves using “ggplot2”* (0.4.9). CRAN Project.
114. Ke, D., Li, H., Zhang, Y., An, Y., Fu, H., Fang, X., & Zheng, X. (2017). The combination of circulating long noncoding RNAs AK001058, INHBA-AS1, MIR4435-2HG, and CEBPA-AS1 fragments in plasma serve as diagnostic markers for gastric cancer. *Oncotarget*, 8(13), 21516–21525. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15628>
115. Kilbride, S. M., Farrelly, A. M., Bonner, C., Ward, M. W., Nyhan, K. C., Concannon, C. G., Wollheim, C. B., Byrne, M. M., & Prehn, J. H. M. (2010). AMP-activated protein kinase mediates apoptosis in response to bioenergetic stress through activation of the pro-

- apoptotic Bcl-2 homology domain-3-only protein BMF. *Journal of Biological Chemistry*, 285(46), 36199–36206. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.138107>
116. Kim, B. R., Kang, M. H., Kim, J. L., Na, Y. J., Park, S. H., Lee, S. I., Kang, S., Joung, S. Y., Lee, S.-Y., Lee, D.-H., Min, B. W., & Oh, S. C. (2016). RUNX3 inhibits the metastasis and angiogenesis of colorectal cancer. *Oncology Reports*, 36(5), 2601–2608. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5086>
  117. Kim, B. R., Na, Y. J., Kim, J. L., Jeong, Y. A., Park, S. H., Jo, M. J., Jeong, S., Kang, S., Oh, S. C., & Lee, D.-H. (2020). RUNX3 suppresses metastasis and stemness by inhibiting Hedgehog signaling in colorectal cancer. *Cell Death & Differentiation*, 27(2), 676–694. <https://doi.org/10.1038/s41418-019-0379-5>
  118. Kim, B. R., Park, S. H., Jeong, Y. A., Na, Y. J., Kim, J. L., Jo, M. J., Jeong, S., Yun, H. K., Oh, S. C., & Lee, D.-H. (2019). RUNX3 enhances TRAIL-induced apoptosis by upregulating DR5 in colorectal cancer. *Oncogene*, 38(20), 3903–3918. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0693-x>
  119. Kim, J. E., Choi, J., Sung, C. O., Hong, Y. S., Kim, S. Y., Lee, H., Kim, T. W., & Kim, J. il. (2021). High prevalence of TP53 loss and whole-genome doubling in early-onset colorectal cancer. *Experimental & Molecular Medicine* 2021 53:3, 53(3), 446–456. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00583-1>
  120. Kim, S. E., Paik, H. Y., Yoon, H., Lee, J. E., Kim, N., & Sung, M. K. (2015). Sex- and gender-specific disparities in colorectal cancer risk. *World Journal of Gastroenterology*, 21(17), 5167–5175. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i17.5167>
  121. Kogo, R., Shimamura, T., Mimori, K., Kawahara, K., Imoto, S., Sudo, T., Tanaka, F., Shibata, K., Suzuki, A., Komune, S., Miyano, S., & Mori, M. (2011). Long Noncoding RNA *HOTAIR* Regulates Polycomb-Dependent Chromatin Modification and Is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancers. *Cancer Research*, 71(20), 6320–6326. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1021>
  122. Krakhmal, N. v., Zavyalova, M. v., Denisov, E. v., Vtorushin, S. v., & Perelmutter, V. M. (2015). Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms. *Acta Naturae*, 7(2), 17. <https://doi.org/10.32607/20758251-2015-7-2-17-28>
  123. Krishnan, P., & Damaraju, S. (2018). *The Challenges and Opportunities in the Clinical Application of Noncoding RNAs: The Road Map for miRNAs and piRNAs in Cancer Diagnostics and Prognostics*. <https://doi.org/10.1155/2018/5848046>
  124. Kumar, A., Banerjee, A., Singh, D., Thakur, G., Kasarpalkar, N., Gavali, S., Gadkar, S., Madan, T., Mahale, S., Balasinor, N., & Sachdeva, G. (2018). Estradiol: A Steroid with Multiple Facets. *Hormone and Metabolic Research*, 50(05), 359–374. <https://doi.org/10.1055/s-0044-100920>
  125. Kwong, L. N., & Dove, W. F. (2009). APC and its modifiers in colon cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 656, 85–106. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1145-2\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1145-2_8)
  126. Lagunas-Rangel, F. A. (2021). KDM6B (JMJD3) and its dual role in cancer. *Biochimie*, 184, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.02.005>
  127. Lallet-Daher, H., Wiel, C., Gitenay, D., Navaratnam, N., Augert, A., Le Calvé, B., Verbeke, S., Carling, D., Aubert, S., Vindrieux, D., & Bernard, D. (2013). Potassium Channel KCNA1 Modulates Oncogene-Induced Senescence and Transformation. *Cancer Research*, 73(16), 5253–5265. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-3690>
  128. Lan, M., Shi, Y., Han, Z., Hao, Z., Pan, Y., Liu, N., Guo, C., Hong, L., Wang, J., Qiao, T., & Fan, D. (2005). Expression of delayed rectifier potassium channels and their possible roles in proliferation of human gastric cancer cells. *Cancer Biology & Therapy*, 4(12), 1342–1347. <https://doi.org/10.4161/cbt.4.12.2175>
  129. Laviolette, L. A., Hodgkinson, K. M., Minhas, N., Perez-Iratxeta, C., & Vanderhyden, B. C. (2014). 17 $\beta$ -estradiol upregulates GREB1 and accelerates ovarian tumor progression in vivo. *International Journal of Cancer*, 135(5), 1072–1084. <https://doi.org/10.1002/IJC.28741>
  130. Leanza, L., O'Reilly, P., Doyle, A., Venturini, E., Zoratti, M., Szegezdi, E., & Szabo, I. (2014). Correlation between Potassium Channel Expression and Sensitivity to Drug-induced Cell Death in Tumor Cell Lines. *Current Pharmaceutical Design*, 20(2), 189–200. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990032>
  131. Li, S., Lv, C., Li, J., Xie, T., Liu, X., Zheng, Z., Qin, Z., Hui, X., & Yu, Y. (2021). LncRNA LINC00473 promoted colorectal cancer cell proliferation and invasion by targeting miR-195 expression. *American Journal of Translational Research*, 13(6), 6066. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990032>
  132. Li, T., Kang, G., Wang, T., & Huang, H. (2018). Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Oncology Letters*, 16(1), 687–702. <https://doi.org/10.3892/OL.2018.8733>
  133. Li, Y., Hu, H., Wang, Y., Fan, Y., Yang, Y., Guo, B., Xie, X., Lian, J., Jiang, B., Han, B., Wang, Y., Shao, C., & Gong, Y. (2020). CUL4B contributes to cancer stemness by repressing tumor suppressor miR34a in colorectal cancer. *Oncogenesis*, 9(2), 20. <https://doi.org/10.1038/s41389-020-0206-3>
  134. Li, Y., Lin, Z., Chen, B., Chen, S., Jiang, Z., Zhou, T., Hou, Z., & Wang, Y. (2017). Ezrin/NF- $\kappa$ B activation regulates epithelial-mesenchymal transition induced by EGF and promotes metastasis of colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 140–148. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.05.058>
  135. Lin, H., Hong, Y.-G., Zhou, J.-D., Gao, X.-H., Yuan, P.-H., Xin, C., Huang, Z.-P., Zhang, W., Hao, L.-Q., & Hou, K.-Z. (2020). LncRNA INHBA-AS1 promotes colorectal cancer cell proliferation by sponging miR-422a to increase AKT1 axis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 24(19), 9940–9948. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_202010\\_23206](https://doi.org/10.26355/eurrev_202010_23206)
  136. Lin, S., & Gregory, R. I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. *Nature Reviews Cancer* 2015 15:6, 15(6), 321–333. <https://doi.org/10.1038/nrc3932>
  137. Lin, T., Hou, P.-F., Meng, S., Chen, F., Jiang, T., Li, M.-L., Shi, M.-L., Liu, J.-J., Zheng, J.-N., & Bai, J. (2019). Emerging Roles of p53 Related lncRNAs in Cancer Progression: A Systematic Review. *International Journal of Biological Sciences*, 15(6), 1287. <https://doi.org/10.7150/IJBS.33218>
  138. Lin, X., Zhuang, S., Chen, X., Du, J., Zhong, L., Ding, J., Wang, L., Yi, J., Hu, G., Tang, G., Luo, X., Liu, W., & Ye, F. (2022). lncRNA ITGB8-AS1 functions as a ceRNA to promote colorectal cancer growth and migration through integrin-mediated focal adhesion signaling. *Molecular Therapy*, 30(2), 688–702. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.08.011>
  139. Linnekamp, J. F., Hooff, S. R. van, Prasetyanti, P. R., Kandimalla, R., Buikhuisen, J. Y., Fessler, E., Ramesh, P., Lee, K. A. S. T., Bochove, G. G. W., Jong, J. H. de, Cameron, K., Leersum, R. van, Rodermond, H. M., Franitza, M., Nürnberg, P., Mangiapane, L. R., Wang, X., Clevers, H., Vermeulen, L., ... Medema, J. P. (2018). Consensus molecular subtypes of colorectal cancer are recapitulated in vitro and in vivo models. *Cell Death and Differentiation*, 25(3), 616. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0011-5>
  140. Liu, B., Liu, Y., Zou, J., Zou, M., & Cheng, Z. (2022). Smoking is Associated with Lung Adenocarcinoma and Lung Squamous Cell Carcinoma Progression through Inducing Distinguishing lncRNA Alterations in Different Genders. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(8), 1541–1550. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210727115147>
  141. Liu, C., Zhao, Y., Wang, J., Yang, Y., Zhang, Y., Qu, X., Peng, S., Yao, Z., Zhao, S., He, B., Mi, Q., Zhu, Y., Liu, X., Zou, J., Zhang, X., & Du, Q. (2020). FoxO3 reverses 5-fluorouracil resistance in human colorectal cancer cells by inhibiting the Nrf2/TR1 signaling pathway. *Cancer Letters*, 470, 29–42. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2019.11.042>

142. Liu, K., Wang, S., Liu, Y., Gu, J., Gu, S., Xu, Z., Zhang, R., Wang, Z., Ma, H., Chen, Y., & Ji, L. (2016). Overexpression of MYCN promotes proliferation of non-small cell lung cancer. *Tumor Biology*, 37(9), 12855–12866. <https://doi.org/10.1007/s13277-016-5236-2>
143. Liu, R., Zhang, Q., Shen, L., Chen, S., He, J., Wang, D., Wang, Q., Qi, Z., Zhou, M., & Wang, Z. (2020). Long noncoding RNA IncRI regulates DNA damage repair and radiation sensitivity of CRC cells through NHEJ pathway. *Cell Biology and Toxicology*, 36(5), 493–507. <https://doi.org/10.1007/s10565-020-09524-6>
144. Liu, S., Fan, W., Gao, X., Huang, K., Ding, C., Ma, G., Yan, L., & Song, S. (2019). Estrogen receptor alpha regulates the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in colon cancer by targeting the NOD-like receptors. *Cellular Signalling*, 61, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.05.009>
145. Long, J., Bai, Y., Yang, X., Lin, J., Yang, X., Wang, D., He, L., Zheng, Y., & Zhao, H. (2019). Construction and comprehensive analysis of a ceRNA network to reveal potential prognostic biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell International*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S12935-019-0817-Y>
146. Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
147. Lu, G. F., Sun, Y. L., An, S. L., Xin, S. N., Ren, X. L., Zhang, D., Wu, P. X., Liao, W. T., Ding, Y. Q., & Liang, L. (2015). MicroRNA-34a targets FMNL2 and E2F5 and suppresses the progression of colorectal cancer. *Experimental and Molecular Pathology*, 99(1), 173–179. <https://doi.org/10.1016/J.YEXMP.2015.06.014>
148. Lu, L., Liu, L.-P., Zhao, Q.-Q., Gui, R., & Zhao, Q.-Y. (2021). Identification of a Ferroptosis-Related LncRNA Signature as a Novel Prognosis Model for Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.675545>
149. Luo, R., Song, J., Zhang, W., & Ran, L. (2020). Identification of MF12-AS1, a Novel Pivotal lncRNA for Prognosis of Stage III/IV Colorectal Cancer. *Digestive Diseases and Sciences*, 65(12), 3538–3550. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06064-1>
150. Lyu, L., Yao, J., Wang, M., Zheng, Y., Xu, P., Wang, S., Zhang, D., Deng, Y., Wu, Y., Yang, S., Lyu, J., Guan, F., & Dai, Z. (2020). Overexpressed Pseudogene HLA-DPB2 Promotes Tumor Immune Infiltrates by Regulating HLA-DPB1 and Indicates a Better Prognosis in Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, 10, 1245. <https://doi.org/10.3389/FONC.2020.01245/BIBTEX>
151. Ma, Y., Yan, F., Li, L., Liu, L., & Sun, J. (2014). Deletion and down-regulation of SMAD4 gene in colorectal cancers in a Chinese population. *Chinese Journal of Cancer Research*, 26(5), 525. <https://doi.org/10.3978/J.ISSN.1000-9604.2014.09.02>
152. Mao, L., Yang, J., Yue, J., Chen, Y., Zhou, H., Fan, D., Zhang, Q., Buraschi, S., Iozzo, R. v., & Bi, X. (2021). Decorin deficiency promotes epithelial-mesenchymal transition and colon cancer metastasis. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology*, 95, 1–14. <https://doi.org/10.1016/J.MATBIO.2020.10.001>
153. Mas-Ponte, D., Carlevaro-Fita, J., Palumbo, E., Pulido, T. H., Guigo, R., & Johnson, R. (2017). LncAtlas database for subcellular localization of long noncoding RNAs. *RNA*, 23(7), 1080. <https://doi.org/10.1261/RNA.060814.117>
154. McGeary, S. E., Lin, K. S., Shi, C. Y., Pham, T. M., Bisaria, N., Kelley, G. M., & Bartel, D. P. (2019). The biochemical basis of microRNA targeting efficacy. *Science*, 366(6472). <https://doi.org/10.1126/science.aav1741>
155. McMahon, M., Contreras, A., & Ruggero, D. (2015). Small RNAs with big implications: new insights into H/ACA snoRNA function and their role in human disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA*, 6(2), 173–189. <https://doi.org/10.1002/WRNA.1266>
156. Miller, K. D., Nogueira, L., Mariotto, A. B., Rowland, J. H., Yabrof, R. K., Alfano, C. M., Jemal, A., Kramer, J. L., & Siegel, R. L. (2019). Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2019. *CA CANCER J CLIN*, 69, 363–385. <https://doi.org/10.3322/caac.21565>
157. Mo, S., Zhang, L., Dai, W., Han, L., Wang, R., Xiang, W., Wang, Z., Li, Q., Yu, J., Yuan, J., Cai, S., & Cai, G. (2020). Antisense lncRNA LDLRAD4-AS1 promotes metastasis by decreasing the expression of LDLRAD4 and predicts a poor prognosis in colorectal cancer. *Cell Death & Disease* 2020 11:2, 11(2), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2338-y>
158. Mora-Santos, M., Castilla, C., Herrero-Ruiz, J., Giráldez, S., Limó N-Mortés, M. C., Sáez, C., Japó N B, M. A. ´, Tortolero, M., & Romero, F. (2013). A single mutation in Securin induces chromosomal instability and enhances cell invasion. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.06.024>
159. Müller, M. F., Ibrahim, A. E. K., & Arends, M. J. (2016). Molecular pathological classification of colorectal cancer. *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology*, 469(2), 125–134. <https://doi.org/10.1007/s00428-016-1956-3>
160. Mungenast, F., & Thalhammer, T. (2014). Estrogen Biosynthesis and Action in Ovarian Cancer. *Frontiers in Endocrinology*, 5(NOV). <https://doi.org/10.3389/FENDO.2014.00192>
161. Muzny, D. M., Bainbridge, M. N., Chang, K., Dinh, H. H., Drummond, J. A., Fowler, G., Kovar, C. L., Lewis, L. R., Morgan, M. B., Newsham, I. F., Reid, J. G., Santibanez, J., Shinbrot, E., Trevino, L. R., Wu, Y. Q., Wang, M., Gunaratne, P., Donehower, L. A., Creighton, C. J., ... Thomson, E. (2012). Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature*, 487(7407), 330–337. <https://doi.org/10.1038/nature11252>
162. National Cancer Institute. (2015, February 9). *What is cancer?* . Cancer . <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es>
163. Necsulea, A., Veber, P., Boldanova, T., Ng, C. K. Y., Wieland, S., & Heim, M. H. (2021). LncRNA analyses reveal increased levels of non-coding centromeric transcripts in hepatocellular carcinoma. *BioRxiv*, 2021.03.03.433778. <https://doi.org/10.1101/2021.03.03.433778>
164. Nguyen, H. T., & Duong, H. Q. (2018). The molecular characteristics of colorectal cancer: Implications for diagnosis and therapy (review). In *Oncology Letters* (Vol. 16, Issue 1, pp. 9–18). Spandidos Publications. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.8679>
165. Ni, H., Chen, L., Song, L., Sun, L., Cui, H., Zhou, Q., Hu, C., Jiao, W., Shen, T., Gao, T., Liu, Y., & Li, J. (2019). ErbB4 acts as a suppressor in colitis and its associated carcinoma by negatively regulating cholesterol metabolism. *Carcinogenesis*, 40(5), 680–686. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGY164>
166. Ni, S. J., Zhao, L. Q., Wang, X. F., Wu, Z. H., Hua, R. X., Wan, C. H., Zhang, J. Y., Zhang, X. W., Huang, M. Z., Gan, L., Sun, H. L., Dimri, G. P., & Guo, W. J. (2018). CBX7 regulates stem cell-like properties of gastric cancer cells via p16 and AKT-NF- $\kappa$ B-MIR-21 pathways. *Journal of Hematology and Oncology*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S13045-018-0562-Z/FIGURES/7>
167. Nikonova, A. S., Astsaturov, I., Serebriiskii, I. G., Dunbrack, R. L., Jr., & Golemis, E. A. (2013). Aurora-A kinase (AURKA) in normal and pathological cell growth. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 70(4), 661. <https://doi.org/10.1007/S00018-012-1073-7>
168. Nilius, B., & Wohlrab, W. (1992). Potassium channels and regulation of proliferation of human melanoma cells. *The Journal of Physiology*, 445(1), 537–548. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.1992.SP018938>
169. Novikov, N. M., Zolotaryova, S. Y., Gautreau, A. M., & Denisov, E. v. (2021). Mutational drivers of cancer cell migration and invasion. *British Journal of Cancer*, 124, 102–114. <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01149-0>
170. Ogawa, R., Yamamoto, T., Hirai, H., Hanada, K., Kiyasu, Y., Nishikawa, G., Mizuno, R., Inamoto, S., Itatani, Y., Sakai, Y., & Kawada, K. (2019). Loss of SMAD4 Promotes Colorectal Cancer Progression by Recruiting Tumor-Associated Neutrophils via the CXCL1/8-CXCR2 Axis. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(9), 2887–2899. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3684>



171. Pan, Q., Huang, Y., Wang, Y., Li, D., & Lei, C. (2021). LncRNA ACTA2-AS1 suppress colon adenocarcinoma progression by sponging miR-4428 upregulation BCL2L11. *Cancer Cell International*, 21(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S12935-021-01769-3/FIGURES/7>
172. Pan, S., Bao, D., Li, Y., Liu, D., Quan, S., & Wang, R. (2022). SOX4 induces drug resistance of colorectal cancer cells by downregulating CYLD through transcriptional activation of microRNA-17. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(1). <https://doi.org/10.1002/jbt.22910>
173. Pang, Z., Chen, X., Wang, Y., Wang, Y., Yan, T., Wan, J., Wang, K., & Du, J. (2021). Long non-coding RNA C5orf64 is a potential indicator for tumor microenvironment and mutation pattern remodeling in lung adenocarcinoma. *Genomics*, 113(1), 291–304. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.12.010>
174. Park, H. W., Song, M. S., Sim, H. J., Ryu, P. D., & Lee, S. Y. (2021). The role of the voltage-gated potassium channel, Kv2.1 in prostate cancer cell migration. *BMB Reports*, 54(2), 130–135. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2021.54.2.210>
175. Park, S. J., Kim, J. G., Kim, N. D., Yang, K., Shim, J. W., & Heo, K. (2016). Estradiol, TGF- $\beta$ 1 and hypoxia promote breast cancer stemness and EMT-mediated breast cancer migration. *Oncology Letters*, 11(3), 1895–1902. <https://doi.org/10.3892/OL.2016.4115/HTML>
176. Pereira Zambalde, E., Bayraktar, R., Schultz Jucoski, T., Ivan, C., Rodrigues, A. C., Mathias, C., knutsen, E., Silveira de Lima, R., Fiori Gradia, D., de Souza Fonseca Ribeiro, E. M., Hannash, S., Adrian Calin, G., & Carvalhode Oliveira, J. (2021). A novel lncRNA derived from an ultraconserved region: lnc-uc.147, a potential biomarker in luminal A breast cancer. *RNA Biology*, 18(S1), 416–429. [https://doi.org/10.1080/15476286.2021.1952757/SUPPL\\_FILE/KRNB\\_A\\_1952757\\_SM7559.ZIP](https://doi.org/10.1080/15476286.2021.1952757/SUPPL_FILE/KRNB_A_1952757_SM7559.ZIP)
177. Perez, C. A. G., Adachi, S., Nong, Q. D., Adhitama, N., Matsuura, T., Natsume, T., Wada, T., Kato, Y., & Watanabe, H. (2021). Sense-overlapping lncRNA as a decoy of translational repressor protein for dimorphic gene expression. *PLoS Genetics*, 17(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009683>
178. Perez, M. A., Magtanong, L., Dixon, S. J., & Watts, J. L. (2020). Dietary Lipids Induce Ferroptosis in Caenorhabditis elegans and Human Cancer Cells. *Developmental Cell*, 54(4), 447–454.e4. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.06.019>
179. Pino, M. S., & Chung, D. C. (2010). The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer. *Gastroenterology*, 138(6), 2059–2072. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.12.065>
180. Pistrutto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Alessia Garufi, & D'Orazi, G. (2016). Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging*, 8(4), 603–619. <https://doi.org/10.18632/AGING.100934>
181. Piunti, A., & Shilatifard, A. (2021). The roles of Polycomb repressive complexes in mammalian development and cancer. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(5), 326–345. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00341-1>
182. Plum, P. S., Gebauer, F., Krämer, M., Alakus, H., Berth, F., Chon, S. H., Schiffmann, L., Zander, T., Büttner, R., Hölscher, A. H., Bruns, C. J., Quaa, A., & Loeser, H. (2019). HER2/neu (ERBB2) expression and gene amplification correlates with better survival in esophageal adenocarcinoma 11 Medical and Health Sciences 1112 Oncology and Carcinogenesis. *BMC Cancer*, 19(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S12885-018-5242-4/TABLES/2>
183. Poppy Roworth, A., Ghari, F., & la Thangue, N. B. (2015). To live or let die-complexity within the E2F1 pathway. *Molecular & Cellular Oncology*, 2(1), e970480-e970480-11. <https://doi.org/10.4161/23723548.2014.970480>
184. Pouya, F., Mojtabanezhad Shariatpanahi, A., Ghaffarzadegan, K., Tabatabaee Yazdi, S. A., Golmohammadzadeh, H., Soltani, G., Aminian Toosi, K., & Kerachian, M. A. (2018). A novel large germ line deletion in adenomatous polyposis coli (APC) gene associated with familial adenomatous polyposis. *Molecular Genetics & Genomic Medicine*, 6(6), 1031. <https://doi.org/10.1002/MGG3.479>
185. Prensner, J. R., Chen, W., Iyer, M. K., Cao, Q., Ma, T., Han, S., Sahu, A., Malik, R., Wilder-Romans, K., Navone, N., Logothetis, C. J., Araujo, J. C., Pisters, L. L., Tewari, A. K., Canman, C. E., Knudsen, K. E., Kitabayashi, N., Rubin, M. A., Demicheli, F., ... Feng, F. Y. (2014). PCAT-1, a long noncoding RNA, regulates BRCA2 and controls homologous recombination in cancer. *Cancer Research*, 74(6), 1651. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-3159>
186. Qian, W., Feng, Y., Li, J., Peng, W., Gu, Q., Zhang, Z., Ji, D., Wang, Q., Zhang, D., & Sun, Y. (2019). Construction of ceRNA networks reveals differences between distal and proximal colon cancers. *Oncology Reports*, 41(5), 3027–3040. <https://doi.org/10.3892/or.2019.7083>
187. Qin, X. Y., Suzuki, H., Honda, M., Okada, H., Kaneko, S., Inoue, I., Ebisui, E., Hashimoto, K., Carninci, P., Kanki, K., Tatsukawa, H., Ishibashi, N., Masaki, T., Matsuura, T., Kagechika, H., Toriguchi, K., Hatano, E., Shirakami, Y., Shiota, G., ... Kojima, S. (2018). Prevention of hepatocellular carcinoma by targeting MYCN-positive liver cancer stem cells with acyclic retinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(19), 4969–4974. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802279115>
188. Qu, J., Li, M., Zhong, W., & Hu, C. (2015). Competing endogenous RNA in cancer: a new pattern of gene expression regulation. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(10), 17110. [/pmc/articles/PMC4694204/](https://doi.org/10.1002/PMCG3.479)
189. Qu, S., Yang, X., Li, X., Wang, J., Gao, Y., Shang, R., Sun, W., Dou, K., & Li, H. (2015). Circular RNA: A new star of noncoding RNAs. *Cancer Letters*, 365(2), 141–148. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2015.06.003>
190. R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. (4.1.1). R Foundation for Statistical Computing.
191. Rajagopal, T., Talluri, S., Akshaya, R. L., & Dunna, N. R. (2020). HOTAIR lncRNA: A novel oncogenic propellant in human cancer. *Clinica Chimica Acta*, 503, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.12.028>
192. Randon, G., Yaeger, R., Hechtman, J. F., Manca, P., Fucà, G., Walch, H., Lee, J., Élez, E., Seligmann, J., Mussolin, B., Pagani, F., Germani, M. M., Ambrosini, M., Rossini, D., Ratti, M., Salvà, F., Richman, S. D., Wood, H., Nanjangud, G., ... Pietrantonio, F. (2021). EGFR Amplification in Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 113(11), 1561–1569. <https://doi.org/10.1093/JNCI/DJAB069>
193. Rane, S. U., Mirza, H., Grigoriadis, A., & Pinder, S. E. (2015). Selection and evolution in the genomic landscape of copy number alterations in ductal carcinoma in situ (DCIS) and its progression to invasive carcinoma of ductal/no special type: a meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment*, 153(1), 101–121. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3509-x>
194. Ren, F., Wang, L., Shen, X., Xiao, X., Liu, Z., Wei, P., Wang, Y., Qi, P., Shen, C., Sheng, W., & Du, X. (2015). MYBL2 is an independent prognostic marker that has tumor-promoting functions in colorectal cancer. *American Journal of Cancer Research*, 5(4), 1542–1552. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26101717>
195. Ribeiro, J. R., & Freiman, R. N. (2014). Estrogen signaling crosstalk: Implications for endocrine resistance in ovarian cancer. In *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* (Vol. 143, pp. 160–173). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.02.010>
196. Robin, X., Turck, N., Hainard, A., Tiberti, N., Lisacek, F., Sanchez, J. C., & Müller, M. (2011). pROC: An open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*, 12(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-77/TABLES/3>
197. Rodriguez, G. V., Abrahamsson, A., Jensen, L. D. E., & Dabrosin, C. (2017). Estradiol promotes breast cancer cell migration via recruitment and activation of neutrophils. *Cancer Immunology Research*, 5(3), 234–247. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0150/470560/AM/ESTRADIOL-PROMOTES-BREAST-CANCER-CELL-MIGRATION>

198. Roskoski, R. (2014). The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacological Research*, 79, 34–74. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2013.11.002>
199. RStudio Team. (2021). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. RStudio (2021.9.0.351). PBC.
200. Sack, L. M., Davoli, T., Li, M. Z., Li, Y., Xu, Q., Naxerova, K., Wooten, E. C., Bernardi, R. J., Martin, T. D., Chen, T., Leng, Y., Liang, A. C., Scorsone, K. A., Westbrook, T. F., Wong, K.-K., & Elledge, S. J. (2018). Profound Tissue Specificity in Proliferation Control Underlies Cancer Drivers and Aneuploidy Patterns. *Cell*, 173(2), 499–514.e23. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.02.037>
201. Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S., & Ghaffari, S. H. (2019). An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *Journal of Cellular Physiology*, 234(5), 5451–5465. <https://doi.org/10.1002/JCP.27486>
202. Samavat, H., & Kurzer, M. S. (2015). Estrogen metabolism and breast cancer. *Cancer Letters*, 356(2), 231–243. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.04.018>
203. Sang, L., Ju, H. qiang, Yang, Z., Ge, Q., Zhang, Z., Liu, F., Yang, L., Gong, H., Shi, C., Qu, L., Chen, H., Wu, M., Chen, H., Li, R., Zhuang, Q., Piao, H., Yan, Q., Yu, W., Wang, L., ... Lin, A. (2021). Mitochondrial long non-coding RNA GAS5 tunes TCA metabolism in response to nutrient stress. *Nature Metabolism* 2021 3:1, 3(1), 90–106. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-00325-z>
204. Sansregret, L., & Swanton, C. (2017). The Role of Aneuploidy in Cancer Evolution. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 7(1), a028373. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028373>
205. Santarpia, L., Lippman, S. M., & El-Naggar, A. K. (2012). Targeting the MAPK–RAS–RAF signaling pathway in cancer therapy. <http://Dx.Doi.Org/10.1517/14728222.2011.645805>, 16(1), 103–119. <https://doi.org/10.1517/14728222.2011.645805>
206. Sasso, C. V., Santiano, F. E., Arboccó, F. C. V., Zyla, L. E., Semino, S. N., Guerrero-Gimenez, M. E., Creydt, V. P., Fontana, C. M. L., & Carón, R. W. (2019). Estradiol and progesterone regulate proliferation and apoptosis in colon cancer. *Endocrine Connections*, 8(3), 217–229. <https://doi.org/10.1530/EC-18-0374>
207. Sato, M., Kadomatsu, T., Miyata, K., Warren, J. S., Tian, Z., Zhu, S., Horiguchi, H., Makaju, A., Bakhtina, A., Morinaga, J., Sugizaki, T., Hirashima, K., Yoshinobu, K., Imasaka, M., Araki, M., Komohara, Y., Wakayama, T., Nakagawa, S., Franklin, S., ... Oike, Y. (2021). The lncRNA Caren antagonizes heart failure by inactivating DNA damage response and activating mitochondrial biogenesis. *Nature Communications* 2021 12:1, 12(1), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22735-7>
208. Scelfo, A., Fernández-Pérez, D., Tamburri, S., Zanotti, M., Lavarone, E., Soldi, M., Bonaldi, T., Ferrari, K. J., & Pasini, D. (2019). Functional Landscape of PCGF Proteins Reveals Both RING1A/B-Dependent-and RING1A/B-Independent-Specific Activities. *Molecular Cell*, 74(5), 1037–1052.e7. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2019.04.002>
209. Schee, K., Lorenz, S., Worren, M. M., Günther, C. C., Holden, M., Hovig, E., Fodstad, Ø., Meza-Zepeda, L. A., & Flatmark, K. (2013). Deep Sequencing the MicroRNA Transcriptome in Colorectal Cancer. *PLOS ONE*, 8(6), e66165. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0066165>
210. Schuettengruber, B., Bourbon, H. M., di Croce, L., & Cavalli, G. (2017). Genome Regulation by Polycomb and Trithorax: 70 Years and Counting. *Cell*, 171(1), 34–57. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2017.08.002/ATTACHMENT/47523B00-4B69-4003-B739-CDB26906681A/MMC2.PDF>
211. Sepulveda, A. R., Hamilton, S. R., Allegra, C. J., Grody, W., Cushman-Vokoun, A. M., Funkhouser, W. K., Kopetz, S. E., Lieu, C., Lindor, N. M., Minsky, B. D., Monzon, F. A., Sargent, D. J., Singh, V. M., Willis, J., Clark, J., Colasacco, C., Rumble, R. B., Temple-Smolkin, R., Ventura, C. B., & Nowak, J. A. (2017). Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *American Journal of Clinical Pathology*, 147(3), 221–260. <https://doi.org/10.1093/AJCP/AQW209>
212. Sha, Q.-K., Chen, L., Xi, J.-Z., & Song, H. (2019). Long non-coding RNA LINC00858 promotes cells proliferation, migration and invasion by acting as a ceRNA of miR-22-3p in colorectal cancer. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 1057–1066. <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1544143>
213. Shahzina, K. (2013). Effect of O-GlcNAcylation on tamoxifen sensitivity in breast cancer derived MCF-7 cells [Université René Descartes ]. In *Agricultural Sciences* (Vol. 22, Issue 4). <https://doi.org/10.2174/1568009621666211118111506>
214. Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., & Ideker, T. (2003). Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Research*, 13, 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
215. Sheng, Y. H., He, Y., Hasnain, S. Z., Wang, R., Tong, H., Clarke, D. T., Lourie, R., Oancea, I., Wong, K. Y., Lumley, J. W., Florin, T. H., Sutton, P., Mcmillan, N. A., & Mcguckin, M. A. (2017). MUC13 protects colorectal cancer cells from death by activating the NF-κB pathway and is a potential therapeutic target. *Oncogene*, 36, 700–713. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.241>
216. Shi, T., Guo, D., Xu, H., Su, G., Chen, J., Zhao, Z., Shi, J., Wedemeyer, M., Attenello, F., Zhang, L., & Lu, W. (2020). HOTAIRM1, an enhancer lncRNA, promotes glioma proliferation by regulating long-range chromatin interactions within HOXA cluster genes. *Molecular Biology Reports*, 47(4), 2723–2733. <https://doi.org/10.1007/S11033-020-05371-0/FIGURES/5>
217. Shi, Y., Liu, Z., Lin, Q., Luo, Q., Cen, Y., Li, J., Fang, X., & Gong, C. (2021). MiRNAs and Cancer: Key Link in Diagnosis and Therapy. *Genes* 2021, Vol. 12, Page 1289, 12(8), 1289. <https://doi.org/10.3390/GENES12081289>
218. Shon, W., Sukov, W. R., Jenkins, S. M., & Folpe, A. L. (2014). MYC amplification and overexpression in primary cutaneous angiosarcoma: a fluorescence in-situ hybridization and immunohistochemical study. *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.*, 27(4), 509–515. <https://doi.org/10.1038/MODPATHOL.2013.163>
219. Siegel, R. L., Fedewa, S. A., Anderson, W. F., Miller, K. D., Ma, J., Rosenberg, P. S., & Jemal, A. (2017). Colorectal Cancer Incidence Patterns in the United States, 1974–2013. *JNCI J Natl Cancer Ins*, 109(8). <https://doi.org/10.1093/jnci/djw322>
220. Sigismund, S., Avanzato, D., & Lanzetti, L. (2018). Emerging functions of the EGFR in cancer. *Molecular Oncology*, 12(1), 3–20. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12155>
221. Smits, M., Nilsson, J., Mir, S. E., Stoop, P. M. van der, Hulleman, E., Niers, J. M., Hamer, P. C. de W., Marquez, V. E., Cloos, J., Krichevsky, A. M., Noske, D. P., Tannous, B. A., Würdinger, T., Smits, M., Nilsson, J., Mir, S. E., van der Stoop, P. M., Hulleman, E., Niers, J. M., ... Würdinger, T. (2010). miR-101 is down-regulated in glioblastoma resulting in EZH2-induced proliferation, migration, and angiogenesis. *Oncotarget*, 1(8), 710–720. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.205>
222. Sobin, L. H., Gospodarowicz, M. K., & Wittekind, Christian. (2011). *TNM Classification of Malignant Tumours*. Wiley.
223. Song, M., Park, S., Park, J., Byun, J., Jin, H., Seo, S., Ryu, P., & Lee, S. (2018). Kv3.1 and Kv3.4, Are Involved in Cancer Cell Migration and Invasion. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1061. <https://doi.org/10.3390/ijms19041061>
224. Stamatoyannopoulos, J. A., Snyder, M., Hardison, R., Ren, B., Gingera, T., Gilbert, D. M., Groudine, M., Bender, M., Kaul, R., Caneld, T., Giste, E., Johnson, A., Zhang, M., Balasundaram, G., Byron, R., Roach, V., Sabo, P. J., Sandstrom, R., Stehling, S. A., ... Adams, L. (2012). An encyclopedia of mouse DNA elements (Mouse ENCODE). *Genome Biology*, 13(418). <http://genomebiology.com/2012/13/8/418>
225. Statello, L., Guo, C.-J., Chen, L.-L., & Huarte, M. (2020). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2020 22:2, 22(2), 96–118. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00315-9>

226. Steven, A. E., Heiduk, M., Recktenwald, C. v., Hiebl, B., Wickenhauser, C., Massa, C., & Seliger, B. (2015). Colorectal Carcinogenesis: Connecting K-RAS-Induced Transformation and CREB Activity In Vitro and In Vivo. *Molecular Cancer Research*, *13*(8), 1248–1262. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-14-0590>
227. STHDA. (2021, February 15). *STHDA: Statistical tools for high-throughput data analysis*. Correlation Matrix : A Quick Start Guide to Analyze, Format and Visualize a Correlation Matrix Using R Software. <http://www.sthda.com/english/wiki/correlation-matrix-a-quick-start-guide-to-analyze-format-and-visualize-a-correlation-matrix-using-r-software>
228. Storey, N. M., Gómez-Angelats, M., Bortner, C. D., Armstrong, D. L., & Cidlowski, J. A. (2003). Stimulation of Kv1.3 Potassium Channels by Death Receptors during Apoptosis in Jurkat T Lymphocytes. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(35), 33319–33326. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300443200>
229. Sulzyc-Bielicka, V., Domagala, P., Bielik, D., Safranow, K., Rogowski, W., & Domagala, W. (2016). E2F1/TS Immunophenotype and Survival of Patients with Colorectal Cancer Treated with 5FU-Based Adjuvant Therapy. *Pathology Oncology Research*, *22*, 601–608. <https://doi.org/10.1007/s12253-016-0043-z>
230. Sun, H., Wang, G., Peng, Y., Zeng, Y., Zhu, Q. N., Li, T. L., Cai, J. Q., Zhou, H. H., & Zhu, Y. S. (2015). H19 lncRNA mediates 17 $\beta$ -estradiol-induced cell proliferation in MCF-7 breast cancer cells. *Oncology Reports*, *33*(6), 3045–3052. <https://doi.org/10.3892/OR.2015.3899/HTML>
231. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *71*(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
232. Svoboda, M., Slysokova, J., Schneiderova, M., Makovicky, P., Bielik, L., Levy, M., Lipska, L., Hemmelova, B., Kala, Z., Protivankova, M., Vycital, O., Liska, V., Schwarzova, L., Vodickova, L., & Vodicka, P. (2014). HOTAIR long non-coding RNA is a negative prognostic factor not only in primary tumors, but also in the blood of colorectal cancer patients. *Carcinogenesis*, *35*(7), 1510–1515. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgu055>
233. Syed Sameer, A., Reddy Parine, N., Woo Kim, J., Keun Kim, N., Oh Kim, J., Hoon Jun, H., Jin Kim, E., Yong Lee, J., Sung Park, H., Soo Ryu, C., Kim, S., & Oh, D. (2020). Genetic Variants of HOTAIR Associated With Colorectal Cancer Susceptibility and Mortality. *Frontiers in Oncology* | *Www.Frontiersin.Org*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00072>
234. Szabó, I., Bock, J., Grassmé, H., Soddemann, M., Wilker, B., Lang, F., Zoratti, M., & Gulbins, E. (2008). Mitochondrial potassium channel Kv1.3 mediates Bax-induced apoptosis in lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(39), 14861–14866. [https://doi.org/10.1073/PNAS.0804236105/SUPPL\\_FILE/0804236105SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.0804236105/SUPPL_FILE/0804236105SI.PDF)
235. Tan, L., He, X., & Shen, G. (2021). Identification of a 15-pseudogene based prognostic signature for predicting survival and antitumor immune response in breast cancer. *Aging*, *13*(10), 14499–14521. <https://doi.org/10.18632/aging.103735>
236. Tay, Y., Rinn, J., & Pandolfi, P. P. (2014). The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature*, *505*, 344–352. <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1038/nature12986>
237. Teisseyre, A., Gąsiorowska, J., & Michalak, K. (2015). Voltage-Gated Potassium Channels Kv1.3 - Potentially New Molecular Target in Cancer Diagnostics and Therapy. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, *24*(3), 517–524. <https://doi.org/10.17219/acem/22339>
238. Thanki, K., Nicholls, M. E., Gajjar, A., Senagore, A. J., Qiu, S., Szabo, C., Hellmich, M. R., & Chao, C. (2017). Consensus Molecular Subtypes of Colorectal Cancer and their Clinical Implications. *International Biological and Biomedical Journal*, *3*(3), 105–111. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28825047>
239. Therneau, T. (2022). A Package for Survival Analysis in R. In *R package version 3.3-1*.
240. Thompson, S. L., Bakhoum, S. F., & Compton, D. A. (2010). Mechanisms of Chromosomal Instability. *Current Biology : CB*, *20*(6), R285. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2010.01.034>
241. Trabert, B., Brinton, L. A., Anderson, G. L., Pfeiffer, R. M., Falk, R. T., Strickler, H. D., Sliesoraitis, S., Kuller, L. H., Gass, M. L., Fuhrman, B. J., Xu, X., & Wentzensen, N. (2016). Circulating Estrogens and Postmenopausal Ovarian Cancer Risk in the Women’s Health Initiative Observational Study. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, *25*(4), 648–656. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-15-1272-T>
242. Trepap, X., Chen, Z., & Jacobson, K. (2012). Cell migration. In *Comprehensive Physiology* (Vol. 2, Issue 4, pp. 2369–2392). <https://doi.org/10.1002/cphy.c110012>
243. Truty, R., Paul, J., Kennemer, M., Lincoln, S. E., Olivares, E., Nussbaum, R. L., & Aradhya, S. (2018). Prevalence and properties of intragenic copy-number variation in Mendelian disease genes. *Genetics in Medicine* *2018 21:1*, *21*(1), 114–123. <https://doi.org/10.1038/s41436-018-0033-5>
244. Tuersong, T., Li, L., Abulaiti, Z., & Feng, S. (2019). Comprehensive analysis of the aberrantly expressed lncRNA-associated ceRNA network in breast cancer. *Molecular Medicine Reports*, *19*(6), 4697–4710. <https://doi.org/10.3892/MMR.2019.10165/HTML>
245. Ulgen, E., Ozisik, O., & Sezerman, O. U. (2019). pathfindR: An R Package for Comprehensive Identification of Enriched Pathways in Omics Data Through Active Subnetworks. *Frontiers in Genetics*, *10*(SEP), 858. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00858>
246. van Heesch, S., van Itersom, M., Jacobi, J., Boymans, S., Essers, P. B., de Bruijn, E., Hao, W., MacInnes, A. W., Cuppen, E., & Simonis, M. (2014). Extensive localization of long noncoding RNAs to the cytosol and mono- and polyribosomal complexes. *Genome Biology*, *15*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/GB-2014-15-1-R6/FIGURES/5>
247. Vélez-Cruz, R., & Johnson, D. G. (2017). *Molecular Sciences The Retinoblastoma (RB) Tumor Suppressor: Pushing Back against Genome Instability on Multiple Fronts*. <https://doi.org/10.3390/ijms18081776>
248. Vishnubalaji, R., Hamam, R., Yue, S., Al-Obeed, O., Kassem, M., Liu, F.-F., Aldahmash, A., & Alajez, N. M. (2016). MicroRNA-320 suppresses colorectal cancer by targeting SOX4, FOXM1, and FOXQ1. *Oncotarget*, *7*(24), 35789–35802. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8937>
249. Vitre, B. D., & Cleveland, D. W. (2012). Centrosomes, chromosome instability (CIN) and aneuploidy. *Current Opinion in Cell Biology*, *24*(6), 809–815. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2012.10.006>
250. Volders, P. J., Lefever, S., Baute, S., Nuytens, J., Vanderheyden, K., Menten, B., Mestdagh, P., & Vandesompele, J. (2018). Targeted genomic screen reveals focal long non-coding RNA copy number alterations in cancer cell lines. *Non-Coding RNA*, *4*(3). <https://doi.org/10.3390/ncrna4030021>
251. Wan, X. bin, Wang, A. Q., Cao, J., Dong, Z. C., Li, N., Yang, S., Sun, M. M., Li, Z., & Luo, S. X. (2019). Relationships among KRAS mutation status, expression of RAS pathway signaling molecules, and clinicopathological features and prognosis of patients with colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*, *25*(7), 808–823. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i7.808>
252. Wang, B., Li, Y., Tan, F., & Xiao, Z. (2016). Increased expression of SOX4 is associated with colorectal cancer progression. *Tumor Biology*, *37*(7), 9131–9137. <https://doi.org/10.1007/s13277-015-4756-5>
253. Wang, F., Gao, Y., Lv, Y., Wu, Y., Guo, Y., Du, F., Wang, S., Yu, J., Cao, X., & Li, P. A. (2020). Polycomb-like 2 regulates PRC2 components to affect proliferation in glioma cells. *Journal of Neuro-Oncology*, *148*(2), 259–271. <https://doi.org/10.1007/S11060-020-03538-0/FIGURES/6>

254. Wang, H., Liang, L., Fang, J.-Y., & Xu, J. (2016). Somatic gene copy number alterations in colorectal cancer: new quest for cancer drivers and biomarkers. *Oncogene*, *35*(16), 2011–2019. <https://doi.org/10.1038/ncr.2015.304>
255. Wang, H., Ma, P., Liu, P., Guo, D., Liu, Z., & Zhang, Z. (2021). lncRNA SNHG6 promotes hepatocellular carcinoma progression by interacting with HNRNPL/PTBP1 to facilitate SETD7/LZTF1 mRNA destabilization. *Cancer Letters*, *520*, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.07.009>
256. Wang, S., Zhang, X., Wang, G., Cao, B., Yang, H., Jin, L., Cui, M., & Mao, Y. (2019). Syndecan-1 suppresses cell growth and migration via blocking JAK1/STAT3 and Ras/Raf/MEK/ERK pathways in human colorectal carcinoma cells. *BMC Cancer*, *19*(1), 1160. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6381-y>
257. Wang, X., Grasso, C. S., Jordahl, K. M., Kolb, S., Nyame, Y. A., Wright, J. L., Ostrander, E. A., Troyer, D. A., Lance, R., Feng, Z., Dai, J. Y., & Stanford, J. L. (2020). Copy number alterations are associated with metastatic-lethal progression in prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, *23*(3), 494–506. <https://doi.org/10.1038/s41391-020-0212-8>
258. Wang, Y., He, R., & Ma, L. (2020). Characterization of lncRNA-Associated ceRNA Network to Reveal Potential Prognostic Biomarkers in Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *8*, 266. <https://doi.org/10.3389/FBIOE.2020.00266/BIBTEX>
259. Wang, Z. (2017). ErbB receptors and cancer. *Methods in Molecular Biology*, *1652*, 3–35. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7219-7\\_1/COVER](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7219-7_1/COVER)
260. Wang, Z., Chen, X., Liu, N., Shi, Y., Liu, Y., Ouyang, L., Tam, S., Xiao, D., Liu, S., Wen, F., & Tao, Y. (2021). A Nuclear Long Non-Coding RNA LINC00618 Accelerates Ferroptosis in a Manner Dependent upon Apoptosis. *Molecular Therapy*, *29*(1), 263–274. <https://doi.org/10.1016/J.YMTHE.2020.09.024>
261. Ward, M., McEwan, C., Mills, J. D., & Janitz, M. (2015). Conservation and tissue-specific transcription patterns of long noncoding RNAs. <http://www.tandfonline.com/Action/AuthorSubmission?JournalCode=ijht20&page=instructions>, *1*(1), 2–9. <https://doi.org/10.3109/23324015.2015.1077591>
262. Wei, H., Guo, E., Dong, B., & Chen, L. (2015). Prognostic and clinical significance of syndecan-1 in colorectal cancer: a meta-analysis. *BMC Gastroenterology*, *15*(1), 152. <https://doi.org/10.1186/s12876-015-0383-2>
263. Weinberg, R. A. (1996). How cancer arises. *Scientific American*, *275*(3), 62–70. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0996-62>
264. Weinstein, J. N., Collisson, E. A., Mills, G. B., Shaw, K. R. M., Ozenberger, B. A., Ellrott, K., Shmulevich, I., Sander, C., & Stuart, J. M. (2013). The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nature Genetics*, *45*(10), 1113–1120. <https://doi.org/10.1038/ng.2764>
265. WHO. (2020). *Global health estimates: Leading causes of death*. Cause-Specific Mortality, 2000–2019. <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>
266. Williams, B. R., Prabhu, V. R., Hunter, K. E., Glazier, C. M., Whittaker, C. A., Housman, D. E., & Amon, A. (2008). Aneuploidy affects proliferation and spontaneous immortalization in mammalian cells. *Science*, *322*(5902), 703–709. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1160058>
267. Williams, C. S., Bernard, J. K., Beckler, M. D., Almohazey, D., Washington, M. K., Smith, J. J., & Frey, M. R. (2015). ERBB4 is over-expressed in human colon cancer and enhances cellular transformation. *Carcinogenesis*, *36*(7), 710–718. <https://doi.org/10.1093/CARCIN/BGV049>
268. Wise, P. M., Suzuki, S., & Brown, C. M. (2009). Estradiol: a hormone with diverse and contradictory neuroprotective actions. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *11*(3), 297–303. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2009.11.3/pmwise>
269. Wu, X., Pan, Y., Fang, Y., Zhang, J., Xie, M., Yang, F., Yu, T., Ma, P., Li, W., & Shu, Y. (2020). The Biogenesis and Functions of piRNAs in Human Diseases. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, *21*, 108–120. <https://doi.org/10.1016/J.OMTN.2020.05.023>
270. Wu, X., Sui, Z., Zhang, H., Wang, Y., & Yu, Z. (2020). Integrated Analysis of lncRNA-Mediated ceRNA Network in Lung Adenocarcinoma. *Frontiers in Oncology*, *10*, 1869. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.554759>
271. Wu, Y., Xue, J., Li, Y., Wu, X., Qu, M., Xu, D., & Shi, Y. (2021). Expression, clinical significance and correlation of RUNX3 and HER2 in colorectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, *12*(4), 1577–1589. <https://doi.org/10.21037/jgo-21-403>
272. Xiao, J., Bing, Z., Xiao, G., Guan, Y., & Luan, J. (2020). Long non-coding (lnc)RNA PAPAS overexpression inhibits tumor growth in papillary thyroid carcinoma by downregulating lncRNA HOTTIP. *Oncology Letters*, *19*(3), 2281–2285. <https://doi.org/10.3892/OL.2020.11323/HTML>
273. Xiao, M., Cui, S., Zhang, L., Yu, T., Zhang, G., Zhang, Q., Li, L., Cai, Y., Jin, C., Yang, J., Wu, S., & Lu, X. (2019). AC138128.1 an Intronic lncRNA originating from ERCC1 Implies a Potential Application in Lung Cancer Treatment. *Journal of Cancer*, *10*(16), 3608. <https://doi.org/10.7150/JCA.31832>
274. Xie, H., Kang, Y., Wang, S., Zheng, P., Chen, Z., Royid, S., & Zhaoid, C. (2020). E2f5 is a versatile transcriptional activator required for spermatogenesis and multiciliated cell differentiation in zebrafish. *PLOS Genetics*, *16*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008655>
275. Xu, W., Zhou, G., Wang, H., Liu, Y., Chen, B., Chen, W., Lin, C., Wu, S., Gong, A., & Xu, M. (2020). Circulating lncRNA SNHG11 as a novel biomarker for early diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *International Journal of Cancer*, *146*(10), 2901–2912. <https://doi.org/10.1002/ijc.32747>
276. Xue, Y., Gu, D., Ma, G., Zhu, L., Hua, Q., Chu, H., Tong, N., Chen, J., Zhang, Z., & Wang, M. (2015). Genetic variants in lncRNA HOTAIR are associated with risk of colorectal cancer. *Mutagenesis*, *30*, 303–310. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu076>
277. Yang, N., Liu, K., Yang, M., & Gao, X. (2021). CeRNAs in Cancer: Mechanism and Functions in a Comprehensive Regulatory Network. *Journal of Oncology*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/4279039>
278. Yang, Y., Wang, G., He, J., Ren, S., Wu, F., Zhang, J., & Wang, F. (2017). Gender differences in colorectal cancer survival: A meta-analysis. In *International Journal of Cancer* (Vol. 141, Issue 10, pp. 1942–1949). Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/ijc.30827>
279. Ye, Y., Gu, B., Wang, Y., Shen, S., & Huang, W. (2019). E2F1-mediated MNX1-AS1-miR-218-5p-SEC61A1 feedback loop contributes to the progression of colon adenocarcinoma. *Journal of Cellular Biochemistry*, *120*(4), 6145–6153. <https://doi.org/10.1002/JCB.27902>
280. Yin, X., Wang, P., Yang, T., Li, G., Teng, X., Huang, W., & Yu, H. (2020). Identification of key modules and genes associated with breast cancer prognosis using WGCNA and ceRNA network analysis. *Aging*, *13*(2), 2519–2538. <https://doi.org/10.18632/AGING.202285>
281. Yona, A. H., Manor, Y. S., Herbst, R. H., Romano, G. H., Mitchell, A., Kupiec, M., Pilpel, Y., & Dahan, O. (2012). Chromosomal duplication is a transient evolutionary solution to stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(51), 21010–21015. <https://doi.org/10.1073/pnas.1211150109>
282. Yu, C., Hodge, A. M., Wong, E. M., Joo, J. E., Makalic, E., Schmidt, D., Buchanan, D. D., Hopper, J. L., Giles, G. G., Southey, M. C., & Dugué, P.-A. (2021). Association of FOXO3 Blood DNA Methylation with Cancer Risk, Cancer Survival, and Mortality. *Cells*, *10*(12), 3384. <https://doi.org/10.3390/cells10123384>

283. YU, X., & LI, Z. (2015). Long non-coding RNA HOTAIR: A novel oncogene (Review). *Molecular Medicine Reports*, 12(4), 5611–5618. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4161>
284. Yu, X., Zhang, X., Dhakal, I. B., Beggs, M., Kadlubar, S., & Luo, D. (2012). *Induction of cell proliferation and survival genes by estradiol-repressed microRNAs in breast cancer cells*. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-29>
285. Yuan, W., Li, X., Liu, L., Wei, C., Sun, D., Peng, S., & Jiang, L. (2019). Comprehensive analysis of lncRNA-associated ceRNA network in colorectal cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 508(2), 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.151>
286. Zhang, H., Duan, J., Qu, Y., Deng, T., Liu, R., Zhang, L., Bai, M., Li, J., Ning, T., Ge, S., Wang, X., Wang, Z., Fan, Q., Li, H., Ying, G., Huang, D., & Ba, Y. (2016). Onco-miR-24 regulates cell growth and apoptosis by targeting BCL2L1 in gastric cancer. *Protein and Cell*, 7(2), 141–151. <https://doi.org/10.1007/S13238-015-0234-5/FIGURES/6>
287. Zhang, H., Wu, S., & Fu, Z. (2021). LncRNA-cCSC1 promotes cell proliferation of colorectal cancer through sponging miR-124-3p and upregulating CD44. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 557, 228–235. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.04.018>
288. Zhang, L., & Shay, J. W. (2017). Multiple Roles of APC and its Therapeutic Implications in Colorectal Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 109(8). [https://doi.org/10.1093/jnci/kjx109](https://watermark.silverchair.com/djw332.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAQEWggKdDbgkqhkIG9w0BBwagggKOMIICigIBADCCAoMGCSqGSIB3DQEHAATeBgIghkgBZQMEAS4wEQQMaxvAuOKa2LczwbuxAgEQgICVlXMT53-nn1uya4k-zxPobJXqtlu9tECIoxtkbbumrFzWUUVSiSci0tzaJoxK6j7zD-VqFhTF87ZpQLHixqe0hKszdsMGk7WSReHUkFq5FypMwIDW2MvjQzKDUXZjR06LXYxl6bc2IHh4JPzAf_QnXgdY3mct6tI-LU9AtG9o7UydZb1IF4ZGdLSYAbipwrUvwKiCilGkBXmhJF8vpoQ2yEDXDPZ-v-PHICqOKvjf-0XZve8nQCxaA22enrcc_FCiGkrlihpYL_hS3ZZi8e7CZjgeLUGtSZRppFPhL3V4-Y3QkTKB-7VOit3rLdhGhZPOh-D9LbZ1Ts19p1Fts1g4mg1TOzZqjyiG0lWCuzmNjX8aNaNe_MJ19oJotmAJDe7bR2TjwphMeg_DEo0SUGpplgHI2ID2NxJy9XpWGiW1GAOPj9ApcQRcuARx6gzw_hFVRfwEIJ5Ee0z1VRdp1eX0Z2rxQIMHwDq6oh0zSJBn1K27HfU96iJBKy7wYbBh5YvCMCekVxsFesKcshVfiOAOVEdeynznir9gVnYXZODWS7qnK31sf1vNsvJkK3mdj_XZIm5In_6GOBkgLNFpJzGJPuEGmh2LDCoIsDJe3_8s-wUYIYegPAWm1NlMko2fMbv4mEQVUmqz5oeexO-ZFuUlvVWeBryJ9GRWtfddaOZwwpgPtWgZyWryPbM3emXc_eQahqnXOVUcn5NDk5pbluyJOi9cKXw8q3A-GvVvmqau-lsTHrS9E_tqzatwY4vMyRmgwWkuV7oPY7ZuLB48Tx-tNmz)
289. Zhang, P., Chen, C., Zhang, J., & Yu, X. (2022). LncRNA CRYM-AS1 Inhibits Gastric Cancer Progression via Epigenetically Regulating CRYM. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 52(2), 249–259. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35414504>
290. Zhang, X., Yao, J., Shi, H., Gao, B., & Zhang, L. (2019). LncRNA TINCR/microRNA-107/CD36 regulates cell proliferation and apoptosis in colorectal cancer via PPAR signaling pathway based on bioinformatics analysis. *Biological Chemistry*, 400(5), 663–675. <https://doi.org/10.1515/hsz-2018-0236>
291. Zhao, J. P., & Chen, L. L. (2020). Circular RNA MAT2B Induces Colorectal Cancer Proliferation via Sponging miR-610, Resulting in an Increased E2F1 Expression. *Cancer Management and Research*, 12, 7107–7116. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S251180>
292. Zhao, J., Pu, J., Hao, B., Huang, L., Chen, J., Hong, W., Zhou, Y., Li, B., & Ran, P. (2020). LncRNA RP11-86H7.1 promotes airway inflammation induced by TRAPM2.5 by acting as a ceRNA of miRNA-9-5p to regulate NFKB1 in HBECS. *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68327-1>
293. Zhao, J., Xu, J., & Zhang, R. (2018). MicroRNA-539 inhibits colorectal cancer progression by directly targeting sox4. *Oncology Letters*, 16(2), 2693–2700. <https://doi.org/10.3892/OL.2018.8892/HTML>
294. Zhao, X., & Wu, X. (2021). Polycomb-group proteins in the initiation and progression of cancer. *Journal of Genetics and Genomics = Yi Chuan Xue Bao*, 48(6), 433–443. <https://doi.org/10.1016/J.JGG.2021.03.013>
295. Zheng, M., Cao, M. xin, Luo, X. jie, Li, L., Wang, K., Wang, S. sha, Wang, H. fan, Tang, Y. jie, Tang, Y. ling, & Liang, X. hua. (2019). EZH2 promotes invasion and tumour glycolysis by regulating STAT3 and FoxO1 signalling in human OSCC cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(10), 6942–6954. <https://doi.org/10.1111/JCMM.14579>
296. Zheng, M., Hu, Y., Gou, R., Nie, X., Li, X., Liu, J., & Lin, B. (2020). Identification three LncRNA prognostic signature of ovarian cancer based on genome-wide copy number variation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 124, 109810. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109810>
297. Zheng, Q. H., Shi, L., & Li, H. L. (2019). FALEC exerts oncogenic properties to regulate cell proliferation and cell-cycle in endometrial cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109212. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2019.109212>
298. Zheng, W., Chang, R., Luo, Q., Liu, G., & Xu, T. (2022). The long noncoding RNA MIR122HG is a precursor for miR-122-5p and negatively regulates the TAK1-induced innate immune response in teleost fish. *Journal of Biological Chemistry*, 298(4), 101773. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101773>
299. Zhong, Q., Lu, M., Yuan, W., Cui, Y., Ouyang, H., Fan, Y., Wang, Z., Wu, C., Qiao, J., & Hang, J. (2021). Eight-lncRNA signature of cervical cancer were identified by integrating DNA methylation, copy number variation and transcriptome data. *Journal of Translational Medicine 2021 19:1*, 19(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S12967-021-02705-9>
300. Zhou, C., Yang, F., Yuan, S., Ma, J., Liu, F., Yuan, J., Bi, F., Lin, K., Yin, J., Cao, G., Zhou, W., Wang, F., & Sun, S. (2016). Systemic genome screening identifies the outcome associated focal loss of long noncoding RNA PRAL in hepatocellular carcinoma. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 63(3), 850–863. <https://doi.org/10.1002/HEP.28393>
301. Zhou, R.-S., Zhang, E.-X., Sun, Q.-F., Ye, Z.-J., Liu, J.-W., Zhou, D.-H., & Tang, Y. (2019). Integrated analysis of lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network in squamous cell carcinoma of tongue. *BMC Cancer*, 19(1), 779. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5983-8>

## **11. Anexo**

<b>Nombre</b>	<b>Cita</b>	<b>Enlace</b>	<b>Función</b>
R	(R Core Team, 2021)	<a href="https://www.R-project.org/">https://www.R-project.org/</a>	Lenguaje de programación para correr todos los análisis
R Studio	(RStudio Team, 2021)	<a href="http://www.rstudio.com/">http://www.rstudio.com/</a>	Interfaz gráfica de usuario para R.
Bioconductor	(Gentleman et al., 2004)	<a href="https://www.bioconductor.org/">https://www.bioconductor.org/</a>	Ambiente con herramientas abiertas para biología computacional y bioinformática.
TCGAbiolinks	(Colaprico et al., 2016b)	<a href="https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/TCGAbiolinks.html">https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/TCGAbiolinks.html</a>	Acceder, preparar, descargar y analizar información del GDC.
Biomart	(Durinck et al., 2005)	<a href="https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/biomaRt.html">https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/biomaRt.html</a>	Fácil obtención de información biológica, en este caso del ENSEMBL
DESeq2	(Love et al., 2014)	<a href="https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html">https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/DESeq2.html</a>	Estima la dependencia varianza-media en datos de <i>high throughput</i> y calcula la expresión diferencial con una distribución binomial negativa.
Complex Heatmap	(Z. Gu et al., 2016)	<a href="https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/ComplexHeatmap.html">https://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/ComplexHeatmap.html</a>	Creación personalizada de <i>heatmaps</i>

CNApp	(Franch-Expósito et al., 2020)	<a href="https://tools.idibaps.org/CNApp/">https://tools.idibaps.org/CNApp/</a>	Genera mapa de alteraciones genómicas y regresa la lista de genes presentes en dichas regiones.
MiRCode	(Jeggari et al., 2012)	<a href="http://www.mircode.org/">http://www.mircode.org/</a>	Predicción de interacción lncRNA-miRNA de "transcriptome completo" en humanos basado en la anotación GENCODE.
MiRTarBase	(Huang et al., 2019)	<a href="https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php">https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php</a>	Base de datos de predicciones miRNA-mRNA validadas experimentalmente.
miRDB	(Y. Chen & Wang, 2020)	<a href="https://mirdb.org/">https://mirdb.org/</a>	Base de datos para las predicciones de interacciones miRNA-mRNA y anotaciones funcionales.
TargetScan	(McGeary et al., 2019)	<a href="https://www.targetscan.org/vert_80/">https://www.targetscan.org/vert_80/</a>	Base de datos para las predicciones de interacciones miRNA-mRNA.
VennDiagram	(H. Chen & Boutros, 2011)	<a href="https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-12-35">https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-12-35</a>	Generar diagramas de Venn de alta resolución.
Hmisc	(Harrel & Dupont, 2021)	<a href="https://cran.r-project.org/web/packages/Hmisc/index.html">https://cran.r-project.org/web/packages/Hmisc/index.html</a>	Funciones varias para análisis estadísticos a gran escala.
Cytoscape	(Shannon et al., 2003)	<a href="https://cytoscape.org/">https://cytoscape.org/</a>	Software abierto para visualización de redes complejas.



pathfindR	(Ulgen et al., 2019)	<a href="https://cran.r-project.org/web/packages/pathfindR/vignettes/intro_vignette.html">https://cran.r-project.org/web/packages/pathfindR/vignettes/intro_vignette.html</a>	Análisis de enriquecimiento mediante búsqueda activa de subredes.
Survival	(Therneau, 2022)	<a href="https://cran.r-project.org/web/packages/survival/index.html">https://cran.r-project.org/web/packages/survival/index.html</a>	Contiene el núcleo de funciones para análisis de supervivencia.
Survminer	(Kassamba et al., 2021)	<a href="https://cran.r-project.org/web/packages/survminer/index.html">https://cran.r-project.org/web/packages/survminer/index.html</a>	Funciones para hacer las curvas de supervivencia listas para publicación.
pROC	(Robin et al., 2011)	<a href="https://cran.r-project.org/web/packages/pROC/index.html">https://cran.r-project.org/web/packages/pROC/index.html</a>	Herramientas para visualizar, suavizar y comparar curvas ROC y calcular el AUC.

- **Tabla 3: Lista completa de herramientas bioinformáticas utilizadas en el proyecto.**

Chr	Región	Alteración	Frecuencia	ID	Gen	Strand	Start	End	Base Mean	LFC	lfcSE	Stat	pvalue	padj
Cromosoma 1	0-5000000	Pérdida	14.98	ENSG00000225880	LINC00115	-	761585	762902	3.609	-1.586	0.241	-6.573	4.93E-11	2.70E-10
	15000000-20000000	Pérdida	20.37	ENSG00000179743	FLJ37453	-	16160709	16174642	52.826	2.344	0.233	10.080	6.76E-24	1.48E-22
				ENSG00000080947	CROCCP3	-	16793930	16819196	3.873	1.194	0.383	-3.120	1.81E-03	4.07E-03
	45000000-50000000	Pérdida	12.63	ENSG00000242267	SKINT1L	-	48567386	48648100	202.718	1.670	0.190	-8.766	1.86E-18	2.42E-17
145000000-150000000	Ganancia	11.62	ENSG00000180867	PDIA3P1	+	146649429	146651528	0.563	1.616	0.689	2.346	1.90E-02	3.50E-02	
Cromosoma 4	0-5000000	Pérdida	17.85	ENSG00000249673	NOPI4-AS1	+	2937272	2952800	6.536	1.729	0.183	-9.455	3.24E-21	5.39E-20
	20000000-25000000	Pérdida	18.35	ENSG00000249948	GBA3	+	22694536	22821195	229.418	5.215	0.363	14.377	7.22E-47	6.34E-45
	50000000-55000000	Pérdida	13.3	ENSG00000226950	DANCR	+	53578560	53580305	129.522	4.485	0.366	12.253	1.61E-34	7.40E-33
	85000000-90000000	Pérdida	14.98	ENSG00000248019	FAM13A-AS1	+	89630939	89651254	7.467	2.015	0.277	-7.264	3.77E-13	2.58E-12
	120000000-125000000	Pérdida	16.33	ENSG00000249464	LINC01091	+	124571145	124851933	15.744	1.238	0.156	-7.928	2.22E-15	1.98E-14
Cromosoma 5	0-5000000	Ganancia	10.94	ENSG00000221990	EXOC3-AS1	-	441950	443275	33.071	2.543	0.473	5.375	7.65E-08	2.93E-07
	60000000-65000000	Pérdida	12.29	ENSG00000178722	C5orf64	+	60933607	61002362	0.799	1.907	0.297	-6.429	1.28E-10	6.83E-10
	85000000-90000000	Pérdida	15.15	ENSG00000245526	LINC00461	-	87834083	87969157	3.948	2.696	0.330	-8.174	2.98E-16	2.93E-15
	125000000-130000000	Pérdida	14.14	ENSG00000245937	LINC01184	-	127276131	127418867	659.226	2.344	0.241	-9.708	2.80E-22	5.00E-21
	135000000-140000000	Pérdida	11.28	ENSG00000226306	NPY6R	+	137136881	137146439	46.515	3.579	0.503	-7.114	1.13E-12	7.34E-12
	145000000-150000000	Pérdida	10.1	ENSG00000249669	CARMN	+	148786407	148812399	24.533	1.077	0.102	10.519	7.08E-26	1.90E-24
Chr 6	40000000-45000000	Ganancia	10.94	ENSG00000184106	TREML3P	-	41176291	41185685	1306.588	4.727	0.197	23.965	6.42E-127	6.20E-124
Cromosoma 7	20000000-25000000	Ganancia	39.9	ENSG00000232818	RPS2P32	+	23530006	23531031	2.547	1.720	0.337	5.097	3.46E-07	1.22E-06
	25000000-30000000	Ganancia	39.9	ENSG00000225264	ZNRF2P2	-	29724387	29725437	1.429	1.112	0.343	3.247	1.17E-03	2.72E-03
	30000000-35000000	Ganancia	39.9	ENSG00000197085	NPSR1-AS1	-	34386123	34797884	3.559	4.124	0.571	7.226	4.99E-13	3.39E-12
	35000000-40000000	Ganancia	39.9	ENSG00000188185	LINC00265	+	39773166	39834222	184.983	1.097	0.160	6.840	7.95E-12	4.73E-11
	40000000-45000000	Ganancia	39.56	ENSG00000224116	INHBA-AS1	+	41733516	41752792	461.381	1.038	0.119	8.740	2.33E-18	3.00E-17
				ENSG00000235314	LINC00957	+	44078647	44082082	11.064	1.733	0.277	6.247	4.18E-10	2.10E-09
	45000000-50000000	Ganancia	39.39	ENSG00000136275	C7orf69	+	47834888	47859444	1063.835	1.601	0.101	15.813	2.52E-56	3.47E-54
	140000000-145000000	Ganancia	33.33	ENSG00000240889	NDUFB2-AS1	-	140395135	140396877	7.139	1.795	0.363	4.943	7.68E-07	2.62E-06
				ENSG00000170356	OR2A20P	-	143947766	143948696	2.914	2.973	0.395	7.525	5.27E-14	4.01E-13
145000000-150000000	Ganancia	31.14	ENSG00000133624	ZNF767P	-	149244244	149321881	398.621	1.741	0.149	11.662	1.99E-31	7.10E-30	

• **Tabla 4: Lista completa de DElncRNAs asociados a SCNAs**

Chr	Región	Alteración	Frecuencia	ID	Gen	Strand	Start	End	Base Mean	LFC	lfcSE	Stat	pvalue	padj
Cromosoma 8	65000000-70000000	Ganancia	36.36	ENSG00000213005	PTTG3P	-	67679567	67680269	12.78	1.58	0.19	8.34	7.17E-17	7.69E-16
				ENSG00000245910	SNHG6	-	67833924	67837776	1.50	2.24	0.57	3.90	9.47E-05	2.57E-04
	75000000-80000000	Ganancia	37.54	ENSG00000253661	ZFHx4-AS1	-	77523113	77595510	1.80	2.09	0.52	4.05	5.23E-05	1.48E-04
	125000000-130000000	Ganancia	40.24	ENSG00000246228	CASC8	-	128301920	128494384	60.29	1.85	0.18	10.00	1.59E-23	3.33E-22
	140000000-145000000	Ganancia	38.89	ENSG00000254389	RHPN1-AS1	-	144448792	144450805	2569.42	1.09	0.12	9.44	3.74E-21	6.12E-20
ENSG00000196922				ZNF252P	-	146198974	146228285	279.60	2.61	0.13	20.74	1.41E-95	3.41E-93	
Chr 9	45000000-50000000	Ganancia	11.62	ENSG00000227449	FGF7P6	+	46687556	46746820	2.29	1.06	0.47	2.25	2.46E-02	4.41E-02
Cromosoma 12	5000000-10000000	Ganancia	13.97	ENSG00000226711	FAM66C	+	8332804	8353596	9.81	5.38	0.59	9.07	1.23E-19	1.77E-18
	20000000-25000000	Ganancia	12.79	ENSG00000205754	SLCO1B7	+	21168629	21243040	297.33	1.38	0.12	11.85	2.19E-32	8.81E-31
	45000000-50000000	Ganancia	12.29	ENSG00000247774	PCED1B-AS1	-	47602202	47610226	19.82	3.24	0.60	5.44	5.27E-08	2.09E-07
	50000000-55000000	Ganancia	12.29	ENSG00000258279	LINC00592	+	52604713	52617665	1.01	2.43	0.41	5.87	4.41E-09	1.93E-08
		Ganancia		ENSG00000228630	HOTAIR	-	54356091	54362540	7.82	2.20	0.31	7.02	2.23E-12	1.39E-11
	65000000-70000000	Ganancia	11.11	ENSG00000241749	RPSAP52	-	66151799	66220754	539.33	9.19	0.43	21.51	1.30E-102	4.17E-100
	90000000-95000000	Ganancia	10.1	ENSG00000271614	ATP2B1-AS1	+	90102731	90105729	145.67	1.28	0.09	14.77	2.45E-49	2.63E-47
	100000000-105000000	Ganancia	10.61	ENSG00000238105	GOLGA2P5	-	100550174	100567121	0.68	1.27	0.55	2.33	1.99E-02	3.64E-02
	110000000-115000000	Ganancia	10.77	ENSG00000255650	FAM222A-AS1	-	110172013	110211292	31.96	3.88	0.27	14.34	1.25E-46	1.00E-44
125000000-130000000	Ganancia	11.11	ENSG00000214039	LINC02418	-	130518356	130526887	7.07	2.89	0.42	6.79	1.08E-11	6.34E-11	
Chr 13	50000000-55000000	Ganancia	44.28	ENSG00000181358	CTAGE10P	+	50464544	50467516	20.35	1.40	0.27	5.12	2.98E-07	1.07E-06
	100000000-105000000	Ganancia	43.27	ENSG00000250878	METTL21EP	+	103532448	103548383	210.97	2.24	0.17	13.56	6.80E-42	3.86E-40
Chr 14	60000000-65000000	Pérdida	21.72	ENSG00000186369	LINC00643	+	62584074	62600903	1.41	-1.89	0.36	-5.28	1.32E-07	4.95E-07
Cromosoma 15	40000000-45000000	Pérdida	25.93	ENSG00000176753	C15orf56	-	40542865	40545110	75.21	-1.33	0.32	-4.18	2.89E-05	8.47E-05
				ENSG00000205771	CATSPER2P1	-	44028145	44038496	5.32	-1.34	0.22	-6.01	1.90E-09	8.84E-09
	50000000-55000000	Pérdida	23.74	ENSG00000259378	DCAF13P3	+	51236325	51238762	14.96	-1.42	0.28	-5.12	2.98E-07	1.07E-06
	70000000-75000000	Pérdida	22.22	ENSG00000225362	CT62	-	71402582	71407839	2.81	-1.14	0.26	-4.38	1.17E-05	3.57E-05
	85000000-90000000	Pérdida	21.38	ENSG00000255571	MIR9-3HG	+	89904809	89941718	0.35	-1.85	0.64	-2.91	3.62E-03	7.83E-03
95000000-100000000	Pérdida	21.72	ENSG00000189419	SPATA41	-	100884661	100890438	7.12	-1.21	0.42	-2.85	4.39E-03	9.27E-03	

Chr	Región	Alteración	Frecuencia	ID	Gen	Strand	Start	End	Base Mean	LFC	lfcSE	Stat	pvalue	padj
Cromosoma 16	0-5000000	Ganancia	12.79	ENSG00000238098	ABCA17P	+	2390922	2476700	83.40	1.62	0.45	3.56	3.66E-04	9.25E-04
	20000000-25000000	Ganancia	13.13	ENSG00000189149	CRYM-AS1	+	21312169	21329912	3.80	3.94	0.50	7.89	3.14E-15	2.78E-14
				ENSG00000257122	RRN3P3	-	22430866	22449036	11.55	1.93	0.38	5.11	3.20E-07	1.14E-06
	70000000-75000000	Ganancia	11.95	ENSG00000196696	PDXDC2P-NPIPB14P	-	70010201	70099851	3.19	3.17	0.42	7.58	3.34E-14	2.64E-13
	85000000-90000000	Ganancia	12.29	ENSG00000177946	CENPBD1	-	90036182	90039240	4.86	1.35	0.24	5.53	3.16E-08	1.30E-07
ENSG00000222019				URAHP	-	90106168	90114033	32.80	1.39	0.15	9.37	7.20E-21	1.16E-19	
Cromosoma 17	5000000-10000000	Pérdida	41.41	ENSG00000178977	LINC00324	-	8123947	8127361	0.47	-1.40	0.53	-2.66	7.76E-03	1.55E-02
	20000000-25000000	Pérdida	26.09	ENSG00000205212	CCDC144NL	-	20766707	20799453	116.73	-1.20	0.15	-8.23	1.95E-16	1.94E-15
	25000000-30000000	Ganancia	11.78	ENSG00000264743	DPRXP4	+	29302352	29303017	953.22	1.05	0.11	9.98	1.89E-23	3.81E-22
	40000000-45000000	Ganancia	11.45	ENSG00000213373	LINC00671	-	41026690	41050751	44.65	2.63	0.23	11.50	1.31E-30	4.21E-29
	70000000-75000000	Ganancia	10.1	ENSG00000177338	LINC00469	-	71745408	71824676	0.93	1.95	0.83	2.34	1.91E-02	3.51E-02
				ENSG00000182352	C17orf77	+	72580817	72590348	9.76	4.66	0.62	7.55	4.52E-14	3.55E-13
	75000000-80000000	Ganancia	11.11	ENSG00000226137	BAIAP2-DT	-	79002932	79008519	90.83	3.98	0.47	8.41	3.99E-17	4.70E-16
ENSG00000185332				TMEM105	-	79285071	79304474	1.22	2.44	0.44	5.50	3.69E-08	1.52E-07	
Chr 18	10000000-15000000	Pérdida	42.76	ENSG00000265787	CYP4F35P	+	14337421	14342523	197.00	-1.05	0.18	-5.91	3.34E-09	1.48E-08
Chr 20	5000000-10000000	Ganancia	32.32	ENSG00000205181	LINC00654	-	5476712	5485242	2.37	1.15	0.45	2.56	1.05E-02	2.05E-02
	30000000-35000000	Ganancia	57.07	ENSG00000235217	TSPY26P	-	30776948	30778163	18.80	1.20	0.35	3.41	6.60E-04	1.62E-03
	55000000-60000000	Ganancia	57.58	ENSG00000232803	SLCO4A1-AS1	-	61294378	61297973	5575.38	1.63	0.13	12.21	2.76E-34	1.21E-32
Cromosoma 21	15000000-20000000	Pérdida	19.36	ENSG00000215386	MIR99AHG	+	17442807	17983094	0.69	-2.49	0.34	-7.29	3.08E-13	2.12E-12
	35000000-40000000	Pérdida	16.84	ENSG00000230366	DSCR9	+	38580803	38594037	72.39	-3.76	0.28	-13.35	1.23E-40	6.60E-39
	40000000-45000000	Pérdida	16.67	ENSG00000236384	LINC00479	-	43131679	43135935	9.12	-1.03	0.30	-3.44	5.71E-04	1.42E-03
				ENSG00000215458	AATBC	-	45225638	45232448	9.50	-2.40	0.32	-7.53	5.00E-14	3.84E-13
Chr 22	20000000-25000000	Pérdida	17.34	ENSG00000161149	TUBA3FP	-	21362495	21368576	1.91	-3.68	0.31	-11.80	3.90E-32	1.51E-30
	25000000-30000000	Pérdida	19.02	ENSG00000225465	RFPL1S	-	29833003	29838118	5.31	-1.32	0.24	-5.47	4.45E-08	1.79E-07
	40000000-45000000	Pérdida	20.03	ENSG00000184208	C22orf46	+	42086546	42094140	6.64	-1.64	0.26	-6.42	1.37E-10	7.21E-10

lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	
ABCA17P	hsa-miR-24-3p	DYRK2	C22orf64	hsa-miR-429	FSCN1	C5orf64	hsa-miR-30b-5p	IP6K3	
	hsa-miR-22-3p	LRRC1			PMAIP1			MYBL2	
	hsa-miR-590-5p	PDCD4			ZEB1			PTP4A1	
	hsa-miR-30b-5p	SIX1		IRF4	IP6K3				
	hsa-miR-30e-5p	PTP4A1		ZSWIM6	MYBL2				
C22orf46	hsa-miR-10a-5p	TIAM1	C5orf64	hsa-miR-125b-5p	BMF		CATSPER2P1	hsa-miR-30e-5p	PTP4A1
	hsa-miR-125a-5p	IRF4			IRF4				IP6K3
	hsa-miR-125b-5p	ZSWIM6			KCNS3				MYBL2
		BMF			SLC7A1			ZSWIM6	PTP4A1
		IRF4		ZSWIM6	hsa-miR-34c-5p			BMP3	
		SLC7A1		ZSWIM6	MET				
	hsa-miR-133b	CNN2		hsa-miR-140-5p	GALNT16	TGIF2		hsa-miR-429	PMAIP1
	hsa-miR-17-5p	ATAD2		hsa-miR-146b-5p	NOVA1	VEGFA			ZEB1
		CLIP4		hsa-miR-148a-3p	BCL2L11	ZEB1			
		DENND5B			BTBD3	hsa-miR-590-5p		PDCD4	
		DUSP2		CCT6A	hsa-miR-125a-5p	IRF4			
		E2F1		NPTX1	ZSWIM6	ZSWIM6			
		E2F5		RPS6KA5	hsa-miR-125b-5p	BMF			
		EGLN3		SOS2		CYP24A1			
		EIF5A2		WNT1		IRF4			
		GAB1		ATAD2		KCNS3			
		KAT2B		CCND1	SLC7A1				
		KCNB1		CLIP4	ZSWIM6				
		KIAA0513		DENND5B	hsa-miR-129-5p	CBX4			
	LIMA1	DUSP2		SOX4					
	NTN4	E2F1		hsa-miR-148a-3p	BCL2L11				
	RRM2	EGLN3			BMP3				
	VLDLR	EIF5A2			BTBD3				
ZC3H12C	GAB1	CCT6A							
hsa-miR-24-3p	BCL2L11	KAT2B	NPTX1						
	DYRK2	KCNB1	RPS6KA5						
	KCNK2	KIAA0513	SOS2						
	SCML2	LIMA1	WNT1						
hsa-miR-30b-5p	MYBL2	hsa-miR-17-5p	ATAD2						
hsa-miR-30e-5p			CCND1						
			CFL2						
			CLIP4						
			DUSP2						
			E2F1						

lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA				
CATSPER2P1	hsa-miR-17-5p	E2F5	CCDC144NL	hsa-miR-429	FSCN1	CT62	hsa-miR-125a-5p	ZSWIM6				
		EGLN3			VEGFA		hsa-miR-125b-5p	SLC7A1				
		FJX1			ZEB1		ZSWIM6					
		GAB1	hsa-miR-125b-5p	BMF	hsa-miR-129-5p		CBX4					
		KAT2B	hsa-miR-129-5p	EBF1	SOX4							
		KCNB1	hsa-miR-146b-5p	NOVA1	hsa-miR-148a-3p		BMP3					
		KIAA0513	hsa-miR-148a-3p	BMP3			CCT6A					
		LIMA1	hsa-miR-17-5p	NPTX1			HOXC8					
		NTN4	hsa-miR-17-5p	SOS2			RPS6KA5					
		RRM2	hsa-miR-17-5p	ATAD2	CLIP4		SOS2					
		STK17B		CFL2	CCND1							
	VLDLR	DUSP2		EIF5A2								
	hsa-miR-22-3p	DDIT4		EGLN3	FJX1							
		ESR1		EIF5A2	GAB1							
hsa-miR-24-3p	DYRK2	GAB1		ITGB8								
	KCNK2	KCNB1		KIAA0513								
SCML2	LIMA1	NTN4										
CCDC144NL	hsa-miR-140-5p	GALNT16		CRYM-ASI	hsa-miR-10a-5p	E2F7	CTAGE10P	hsa-miR-27a-3p	E2F7			
	hsa-miR-17-5p	ATAD2			hsa-miR-22-3p	DDIT4			LPCAT1			
		CLIP4			hsa-miR-24-3p	CDH7			MIER3			
		DENND5B	hsa-miR-27a-3p		KCNK2	RPS6KA5						
		E2F1	hsa-miR-10a-5p		SCML2	RUNX1						
		E2F5	hsa-miR-129-5p		E2F7	SEMA6A						
		KAT2B	hsa-miR-10a-5p		CBX4	SFRP1						
		KCNB1	hsa-miR-129-5p		EBF1	BMP3						
	KIAA0513	hsa-miR-27a-3p	SOX4		hsa-miR-34c-5p	MET						
	NTN4	hsa-miR-27a-3p	ENDOU		hsa-miR-10a-5p	TGIF2						
	RRM2	hsa-miR-27a-3p	MIER3		hsa-miR-10a-5p	E2F7						
	VLDLR	hsa-miR-27a-3p	RPS6KA5		hsa-miR-140-5p	TIAM1						
	hsa-miR-30b-5p	FOXG1	hsa-miR-27a-3p		SEMA6A	hsa-miR-22-3p		ESR1				
		IP6K3	hsa-miR-27a-3p		SFRP1	hsa-miR-22-3p		LRRC1				
MYBL2	hsa-miR-27a-3p	SEMA6A	hsa-miR-24-3p	BCL2L1								
MZT1	hsa-miR-590-5p	PDCD4		DYRK2								
FOXG1	hsa-miR-10a-5p	E2F7										
hsa-miR-30e-5p	IP6K3	CT62	hsa-miR-10a-5p	E2F7								
	MYBL2											
	MZT1											
CATSPER2P1	hsa-miR-17-5p	CENPBD1	hsa-miR-17-5p	ATAD2	CT62	CTAGE10P	hsa-miR-17-5p	CCND1				
				CFL2				EIF5A2				
				CLIP4				FJX1				
				DUSP2				GAB1				
				EGLN3				ITGB8				
				EIF5A2				KIAA0513				
				GAB1				LIMA1				
				KCNB1				NTN4				
				LIMA1				VLDLR				
				RRM2				ZC3H12C				
				STK17B				E2F7				
	VLDLR			LPCAT1								
	hsa-miR-22-3p			DDIT4				hsa-miR-22-3p	DDIT4	MIER3		
				ESR1				hsa-miR-24-3p	CDH7	RPS6KA5		
hsa-miR-24-3p	DYRK2	hsa-miR-24-3p	KCNK2	RUNX1								
	KCNK2	hsa-miR-27a-3p	SCML2	SEMA6A								
SCML2	hsa-miR-27a-3p	hsa-miR-10a-5p	E2F7	SFRP1								
CCDC144NL	hsa-miR-17-5p	CRYM-ASI	hsa-miR-17-5p	ATAD2	CTAGE10P	CTAGE10P	hsa-miR-27a-3p	E2F7				
				CLIP4				hsa-miR-10a-5p	CBX4			
				DENND5B				hsa-miR-129-5p	EBF1			
				E2F1				hsa-miR-10a-5p	SOX4			
				E2F5				hsa-miR-27a-3p	ENDOU			
				KAT2B				hsa-miR-27a-3p	MIER3			
				KCNB1				hsa-miR-27a-3p	RPS6KA5			
	KIAA0513		hsa-miR-27a-3p	SEMA6A								
	NTN4		hsa-miR-27a-3p	SFRP1								
	RRM2		hsa-miR-590-5p	PDCD4								
	VLDLR		hsa-miR-10a-5p	E2F7								
	hsa-miR-30b-5p		FOXG1	CRYM-ASI			hsa-miR-27a-3p	ENDOU	DSCR9	DSCR9	hsa-miR-10a-5p	E2F7
			IP6K3					hsa-miR-27a-3p				MIER3
	MYBL2		hsa-miR-27a-3p				RPS6KA5	hsa-miR-140-5p			GALNT16	
MZT1	hsa-miR-27a-3p	SEMA6A	hsa-miR-22-3p		ESR1							
hsa-miR-30e-5p	FOXG1	hsa-miR-27a-3p	SFRP1		hsa-miR-22-3p	LRRC1						
	IP6K3	hsa-miR-590-5p	PDCD4		hsa-miR-24-3p	BCL2L1						
MYBL2	hsa-miR-10a-5p	E2F7	hsa-miR-24-3p		DYRK2							
MZT1	hsa-miR-10a-5p	E2F7										

lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	
<b>DSCR9</b>	hsa-miR-24-3p	KCNK2	<b>FAM13A-ASI</b>	hsa-miR-34c-5p	TGIF2	<b>HOTAIR</b>	hsa-miR-148a-3p	SOS2	
		SCML2		hsa-miR-10a-5p	E2F7		ATAD2		
<b>FAM13A-ASI</b>	hsa-miR-125a-5p	IRF4	<b>FAM66C</b>	hsa-miR-125b-5p	BMF		hsa-miR-17-5p	EGLN3	
		ZSWIM6		hsa-miR-129-5p	EBF1			EIF5A2	
	hsa-miR-125b-5p	BMF		hsa-miR-133b	CNN2			FJX1	
		IRF4		hsa-miR-140-5p	GALNT16			GAB1	
		SLC7A1		hsa-miR-193a-3p	ERBB4			ITGB8	
	hsa-miR-129-5p	ZSWIM6		hsa-miR-27a-3p	ENDOU			KAT2B	
		CBX4			LPCAT1			KIAA0513	
		hsa-miR-133b			SFRP1			LIMA1	
	hsa-miR-148a-3p	BCL2L11		hsa-miR-34c-5p	SLC7A11			NTN4	
		BTBD3			BMP3			VLDLR	
		CCT6A			MET			ZC3H12C	
		SOS2		hsa-miR-429	MYCN			MZT1	
	WNT1	IRF4		PMAIP1	PTP4A1				
	ATAD2	ZEB1		ZEB1	SIX1				
	hsa-miR-17-5p	CCND1		<b>GBA3</b>	hsa-miR-125a-5p		ZSWIM6	hsa-miR-30b-5p	MZT1
		DENND5B			hsa-miR-125b-5p		BMF	PTP4A1	
		E2F1			hsa-miR-125b-5p		CYP24A1	hsa-miR-30e-5p	MZT1
		EIF5A2					IRF4	PTP4A1	
		FJX1					KCNS3	hsa-miR-34c-5p	BMP3
		GAB1					SLC7A1	hsa-miR-590-5p	PDCD4
		KAT2B					TRIM71	hsa-miR-125a-5p	IRF4
		KCNB1					ZSWIM6	hsa-miR-125b-5p	ZSWIM6
		KIAA0513			hsa-miR-140-5p		GALNT16	BMF	
		LIMA1			hsa-miR-22-3p		DDIT4	IRF4	
		NTN4					ESR1	ZSWIM6	
		RRM2			hsa-miR-34c-5p		LRRC1	KCNS3	
		STK17B			hsa-miR-34c-5p	BMP3	SLC7A1		
		VLDLR				MET	ZSWIM6		
		ZC3H12C	MYCN		hsa-miR-146b-5p	IRAK1			
		hsa-miR-22-3p	ESR1		NOVA1	NOVA1			
		hsa-miR-24-3p	DYRK2		hsa-miR-30b-5p	BMP3	FOXG1		
			KCNK2			MET	IP6K3		
	hsa-miR-34c-5p	SCML2	hsa-miR-30e-5p	MYBL2	MYBL2				
		BMP3	hsa-miR-148a-3p	MZT1	MZT1				
	<b>HOTAIR</b>	MET	hsa-miR-129-5p	PTP4A1	PTP4A1				
		<b>HOTAIR</b>	HOXC8	FOXG1	FOXG1				
	RPS6KA5		hsa-miR-148a-3p	IP6K3	IP6K3				
				MYBL2	MYBL2				

lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA		
LINC00115	hsa-miR-30e-5p	MZT1	LINC00461	hsa-miR-27a-3p	SEMA6A	NPY6R	hsa-miR-148a-3p	ITGB8		
		PTP4A1			SFRP1			NPTX1		
hsa-miR-10a-5p	E2F7	SLC7A11			RPS6KA5					
	TIAM1	hsa-miR-30b-5p		IP6K3	SOS2					
	hsa-miR-193a-3p			ERBB4	MYBL2			WNT1		
hsa-miR-24-3p				BCL2L11	MZT1			hsa-miR-24-3p	DYRK2	
	DYRK2	PTP4A1		KCNK2						
	SCML2	hsa-miR-30e-5p		IP6K3	hsa-miR-429		FSCN1			
hsa-miR-129-5p	CBX4			MYBL2			PMAIP1			
	SOX4			MZT1			VEGFA			
LINC00324	hsa-miR-148a-3p	BCL2L11		LINC00469	hsa-miR-34c-5p		PTP4A1	OR2A20P	hsa-miR-590-5p	PDCD4
		BMP3					BMP3			MET
		BTBD3	MYCN			TGIF2	EBF1			
		CCT6A	hsa-miR-22-3p		ESR1	hsa-miR-140-5p	GALNT16			
		NPTX1			hsa-miR-30b-5p		SIX1		hsa-miR-146b-5p	NOVA1
		RPS6KA5	hsa-miR-10a-5p		E2F7	hsa-miR-34c-5p	BMP3		hsa-miR-17-5p	ATAD2
	SOS2	hsa-miR-10a-5p		E2F7	CFL2					
	WNT1	hsa-miR-22-3p	ESR1	hsa-miR-125a-5p	IRF4	CCND1				
	LINC00479		DDIT4		ZSWIM6	ZSWIM6	CLIP4			
			LRRC1		LINC00461	NPY6R	hsa-miR-125b-5p	BMF		DUSP2
	hsa-miR-125a-5p	IRF4	ZSWIM6	CYP24A1				E2F1		
		ZSWIM6	hsa-miR-125b-5p	IRF4				KCNS3		EIF5A2
hsa-miR-125b-5p	BMF	KCNS3		SLC7A1				KAT2B		
	IRF4	SLC7A1		TRIM71				KCNB1		
	KCNS3	ZSWIM6		ZSWIM6				KIAA0513		
hsa-miR-133b	CNN2	hsa-miR-129-5p	CBX4	hsa-miR-129-5p	SOX4	NTN4				
hsa-miR-140-5p	GALNT16		SOX4		STK17B					
hsa-miR-22-3p	DDIT4	hsa-miR-146b-5p	IRAK1	hsa-miR-24-3p	BCL2L11	VLDLR				
	ESR1		NOVA1		DYRK2	ZC3H12C				
	LRRC1	hsa-miR-148a-3p	BCL2L11	hsa-miR-27a-3p	E2F7					
ENDOU	BMP3		ENDOU							
LPCAT1	BTBD3		LPCAT1							
RPS6KA5	CCT6A		MIER3							



lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA				
OR2A20P	hsa-miR-27a-3p	SEMA6A	RRN3P3	hsa-miR-125b-5p	IRF4	SNHG6	hsa-miR-27a-3p	SEMA6A				
		SFRP1			KCNS3			SFRP1				
		SLC7A11			ZSWIM6			SLC7A11				
	hsa-miR-34c-5p	BMP3		hsa-miR-129-5p	CBX4		hsa-miR-30b-5p	IP6K3				
		MET			EBF1			MYBL2				
		MYCN			DDIT4			MZT1				
		TGIF2			ESR1			PTP4A1				
PTTG3P	hsa-miR-129-5p	CBX4	hsa-miR-24-3p	hsa-miR-24-3p	LRR1	hsa-miR-30e-5p	SIX1					
		EBF1			BCL2L11		IP6K3					
		SOX4			CDH7		MYBL2					
RPS2P32	hsa-miR-125a-5p	IRF4	SLCO1B7	hsa-miR-129-5p	CBX4	hsa-miR-429	hsa-miR-30e-5p	MZT1				
		hsa-miR-125b-5p			BMF			hsa-miR-129-5p	CBX4	PTP4A1		
	IRF4			hsa-miR-133b	CNN2	PMAIP1						
	KCNS3			hsa-miR-140-5p	GALNT16	VEGFA						
	hsa-miR-34c-5p	SLC7A1		hsa-miR-22-3p	DDIT4	hsa-miR-22-3p	DDIT4	hsa-miR-10a-5p	hsa-miR-125a-5p	ZEB1		
		BMP3			LRR1		LRR1			TIAM1		
		MET			hsa-miR-27a-3p		E2F7			hsa-miR-10a-5p	IRF4	
		MYCN					LPCAT1			hsa-miR-125a-5p	ZSWIM6	
	TGIF2	MIER3		hsa-miR-125b-5p		BMF						
	RPSAP52	hsa-miR-10a-5p			E2F7	RUNX1	CYP24A1					
hsa-miR-125a-5p		IRF4	SEMA6A		IRF4							
		ZSWIM6	SFRP1	KCNS3								
hsa-miR-125b-5p		CYP24A1	SLC7A11	SLC7A11	SLC7A1							
	IRF4	hsa-miR-429	FSCN1	ZSWIM6								
ZSWIM6	PMAIP1		hsa-miR-146b-5p	IRAK1								
hsa-miR-146b-5p	NOVA1	ZEB1		NOVA1								
RRN3P3	hsa-miR-10a-5p	BMP3	SNHG6	hsa-miR-146b-5p	IRAK1	TMEM105	hsa-miR-17-5p	ATAD2				
		CCT6A			NOVA1			CCND1				
	HOXC8	hsa-miR-193a-3p		ERBB4	CFL2							
	ITGB8			DDIT4	CLIP4							
	RPS6KA5	hsa-miR-22-3p		ESR1	DENND5B							
	SOS2			LRR1	DUSP2							
	RRN3P3	hsa-miR-10a-5p		E2F7	hsa-miR-24-3p			hsa-miR-24-3p	BCL2L11	hsa-miR-27a-3p	hsa-miR-17-5p	E2F1
				TIAM1					DYRK2			E2F5
IRF4		SCML2	EGLN3									
ZSWIM6		LPCAT1	EIF5A2									
hsa-miR-125a-5p	BMF	RPS6KA5						FJX1				

lncRNA	miRNA	mRNA	lncRNA	miRNA	mRNA
TMEM105	hsa-miR-17-5p	GAB1	TSPY26P	hsa-miR-10a-5p	E2F7
		ITGB8		hsa-miR-148a-3p	HOXC8
		KAT2B			ITGB8
		KCNB1			NPTX1
		KIAA0513			RPS6KA5
		LIMA1			SOS2
		NTN4			WNT1
		RPS6KA5		hsa-miR-193a-3p	ERBB4
		RRM2		hsa-miR-24-3p	KCNK2
		STK17B		hsa-miR-34c-5p	BMP3
		VLDLR		hsa-miR-590-5p	TGIF2
		ZC3H12C			PDCD4
		hsa-miR-193a-3p		ERBB4	
	hsa-miR-22-3p	DDIT4			
		ESR1			
		LRRC1			
	hsa-miR-24-3p	BCL2L11			
		CDH7			
		DYRK2			
		KCNK2			

- **Tabla 5: Lista completa de interacciones lncRNA-miRNA-mRNA que conforman la ceRNet.**