

Análisis Bioinformático del Genoma Oscuro Transcrito para el Descubrimiento de Dianas en Fibrilación Auricular

Sebastián Usón-Salinas¹, Carlos Asensio-Alloza¹, Jhydell J. Ruíz-Araica², Eduardo Candeal³, Beatriz Ranera², Julia Ramírez^{1, 4, 5}, Laura Ordovás^{1, 4, 6}

¹ Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A), Grupo BSICoS, Universidad de Zaragoza-Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IISA)- CIBER-BBN, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, España.

² Universidad San Jorge, Facultad de Ciencias de la Salud, Zaragoza, España.

³ Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IISA), Zaragoza, España

⁴ CIBER-BBN, Zaragoza, España

⁵ William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, London, UK

⁶ Fundación ARAID, Zaragoza, España

Tel. +34-976762707, e-mail: s.uson@unizar.es

Resumen

La fibrilación auricular (FA), la arritmia cardíaca más común, implica una remodelación auricular anormal y conlleva un mayor riesgo cardiovascular, aunque la base molecular de su patogénesis sigue sin estar clara. Este estudio bioinformático explora el papel de los RNA no codificantes en la progresión de la FA, identificando 11 microRNAs, 10 genes, 35 interacciones y 25 RNAs largos (lncRNAs) desregulados en su fase permanente, mediante un estudio cruzado de datos transcriptómicos. El interactoma resultante implica vías clave involucradas en la señalización del calcio y la regulación del músculo cardíaco, destacando el papel de hsa-miR-206 en las fases paroxística y permanente de la FA. Asimismo, sugiere una acción coordinada entre los parálogos de miR, ofreciendo una base para futuras estrategias terapéuticas basadas en RNA para la FA.

Introducción

Las estrategias terapéuticas para la fibrilación auricular (FA) no abordan la remodelación estructural subyacente que perpetúa la enfermedad. Esta brecha terapéutica evidencia la necesidad de enfoques integrados que combinen herramientas moleculares para intervenir en el remodelado patológico. [1]

Las vías clave identificadas actualmente en los estudios transcriptómicos incluyen la alteración de la homeostasis de proteínas, la señalización del calcio y la activación de cascadas inflamatorias. Se han descrito genes y vías de señalización implicados en la FA que están regulados por RNAs no codificantes (ncRNA), los cuales pueden desempeñar un papel importante en la progresión de la enfermedad mediante la modulación pleiotrópica de la expresión génica (**Figura 1**). [2]

El *genoma oscuro* es reconocido como un componente crítico en la regulación de genes a través de especies de ncRNA como microRNAs (miRs) y RNAs largos (lncRNA). Estos ncRNAs interactúan formando redes RNA competidoras endógenas (ceRNA) que regulan la expresión génica. En ellas, los lncRNAs pueden actuar como esponjas de miR, influyendo en la regulación de su targetoma. [3]

La caracterización exhaustiva de la implicación del ncRNA en la FA, especialmente en lo que respecta a la transición de la fase paroxística a la permanente, sigue siendo limitada. La integración de datos transcriptómicos presenta una oportunidad para identificar perfiles moleculares de ncRNAs con calidad de dianas terapéuticas de la FA y su patogénesis.

Materiales y métodos

Se seleccionaron estudios transcriptómicos mediante una búsqueda en las bases de datos PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) y GEO (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Los datos de RNAseq, microarrays y RNAseq pequeño para el análisis de expresión diferencial (DEA), fueron normalizados y analizados utilizando *limma* y *DESeq2*, respectivamente, ajustando el sexo como covariable. Se realizaron análisis exploratorios y corrección de efectos de lote para garantizar la calidad de los datos [4] [5].

Los resultados de DEA se utilizaron para identificar RNAs expresados diferencialmente (DEGs, DEmiRs y DELncRNAs) en fibrilación auricular permanente (PeFA). El paquete de R *multiMiR* predijo interacciones miRNA-mRNA y miRNA-lncRNA de alta confianza a partir de bases de datos validadas. [6] Los miRNAs centrales se definieron por su consistencia entre los estudios analizados y

por su superposición con DEmiRs de PeFA establecidos. [7] Estos se utilizaron para generar un interactoma específico de PeFA; y la relevancia funcional de sus genes diana se evaluó mediante Gene Ontology y enriquecimiento de vías con KEGG, relacionando así las alteraciones transcriptómicas con las vías biológicas desreguladas en PeFA.

Resultados

Un análisis exhaustivo de los datos transcriptómicos relacionados con la FA identificó 19 estudios elegibles mediante un cribado manual. Después de aplicar un filtrado basado en la disponibilidad de datos, el origen de los tejidos -principalmente la orejuela auricular izquierda-, el tamaño de las cohortes de pacientes y la exclusión de comorbilidades como la insuficiencia cardíaca, se seleccionaron nueve conjuntos de datos para su posterior análisis.

El análisis exploratorio reveló que el sexo era uno de los principales impulsores de la variabilidad de la expresión génica, lo que provocó la exclusión de cohortes con una representación sexual desequilibrada. La corrección de efectos de lote refinó aún más la calidad del conjunto de datos y, en última instancia, redujo el análisis a cuatro conjuntos de datos centrados en la comparación de los perfiles de expresión de PeFA con los controles de ritmo sinusal (SR).

En análisis de expresión diferencial identificó 259 DEGs comunes, 25 DElncRNAs y 11 DEmiRs centrales implicados en la PeFA. Se construyó un interactoma miR-mRNA compuesto por 10 DEGs y 11 DEmiRs centrales, destacando 28 interacciones reguladoras (**Figura 2**). El análisis de enriquecimiento reveló que estos genes están involucrados en la señalización de calcio, la contracción del músculo cardíaco y la función de canales iónicos, lo que destaca la importancia de la remodelación electrofisiológica y estructural en la patología de la FA. Notablemente, hsa-miR-206 está desregulado tanto en la FA paroxística como en la permanente, lo que sugiere su papel potencial en la progresión de la FA a través de su participación en las vías de señalización de calcio. Los hallazgos apoyan la hipótesis de una red reguladora mediada por miRs en la PeFA y enfatizan la necesidad de tener en cuenta el sexo en los análisis transcriptómicos de la FA.

Conclusiones

Se identificaron conjuntos de datos transcriptómicos adecuados para una investigación de estudios cruzados sobre el papel de los ncRNAs

en la FA. Se aplicó un enfoque basado en expresión diferencial y predicción de dianas miR.

El interactoma miR con genes codificantes se ha establecido en PeFA. Aunque no se confirmó una red ceRNA, los lncRNAs identificados ofrecen nuevas líneas de investigación. Los genes que pertenecen al interactoma miR de PeFA describen el marco contextual de la estabilización de la FA, dando una idea de la remodelación estructural y eléctrica.

Referencias

- [1]. HINDRICKS, Gerhard et al., 2021. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European Heart Journal*. Vol. 42, no. 5, pp. 373–498. DOI 10.1093/eurheartj/ehaa612.
- [2]. HUISKES, Fabrics G., CREEMERS, Esther E. y BRUNDEL, Bianca J. J. M., 2023. Dissecting the Molecular Mechanisms Driving Electropathology in Atrial Fibrillation: Deployment of RNA Sequencing and Transcriptomic Analyses. *Cells*. Vol. 12, no. 18, p. 2242. DOI 10.3390/cells12182242.
- [3]. SALMENA, Leonardo et al., 2011. A ceRNA Hypothesis: The Rosetta Stone of a Hidden RNA Language? *Cell*. Vol. 146, no. 3, pp. 353–358. DOI 10.1016/j.cell.2011.07.014.
- [4]. LOVE, M.I., HUBER, W. y ANDERS, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), p.550.
- [5]. RITCHIE, M.E., Phipson, B., WU, D., HU, Y., LAW, C.W., SHI, W., et al., 2015. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, 43(7), e47–e47.
- [6]. RU, Y., KECHRIS, K.J., TABAKOFF, B., HOFFMAN, P., RADCLIFFE, R.A., BOWLER, R., et al., 2014. The multiMiR R package and database: integration of microRNA–target interactions along with their disease and drug associations. *Nucleic Acids Research*, 42(17), e133–e133.
- [7]. VAN DEN BERG, N.W.E. et al., 2023. MicroRNAs in atrial fibrillation target genes in structural remodelling. *Cell and Tissue Research*. Vol. 394, no. 3, pp. 497–514. DOI 10.1007/s00441-023-03768-0.

Agradecimientos

Este trabajo ha contado con el apoyo de la subvención PROY_B08_24 financiada por el Gobierno de Aragón.

Los autores quieren agradecer a los Servicios de Apoyo a la Investigación del Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A) de la Universidad de Zaragoza por el apoyo técnico. En particular, al servicio del Clúster de supercomputación HERMES.

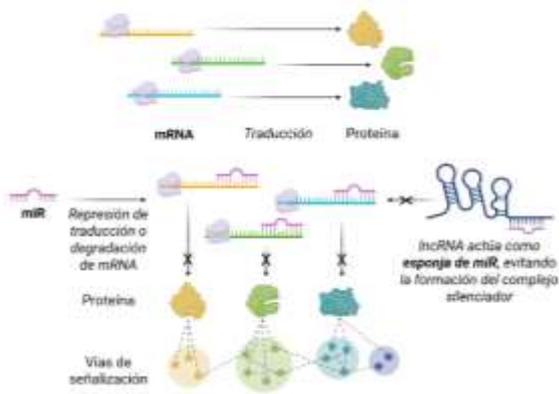


Figura 1. Funciones de las especies de RNA codificantes y no codificantes que constituyen la hipótesis del ceRNA.

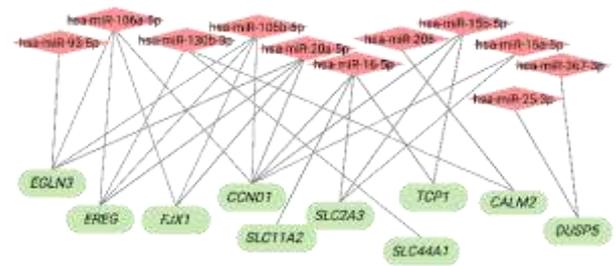


Figura 2. Interactoma miR-mRNA de PeFA