

# Resumen

El cáncer de mama es el cáncer más común en mujeres en todo el mundo y la principal causa de muerte por cáncer en mujeres junto al cáncer de pulmón. Este cáncer tiene muy buen pronóstico en general, con una supervivencia del 80%. Sin embargo, el pronóstico del cáncer de mama triple negativo es mucho peor, al no conocerse ninguna diana farmacológica y tratarse de forma inespecífica. La metformina, fármaco prescrito para la diabetes, ha mostrado algunos buenos resultados preliminares como potencial terapia. Por otro lado, el principal tratamiento dirigido de las pacientes HER2+ es el trastuzumab, que neutraliza al receptor HER2 amplificado; sin embargo, un elevado número de pacientes desarrollan resistencias al tratamiento. Los microRNAs son pequeños RNAs no codificantes capaces de regular la expresión génica epigenéticamente, y pueden ser secretados de la célula en vesículas llamadas exosomas.

El objetivo de este trabajo es abordar estas dos problemáticas en cáncer de mama. Son necesarios estudios de los mecanismos de acción o resistencia de estos fármacos a través de la regulación epigenética por microRNAs. Queremos determinar la relación del miR-26a y sus dianas con el efecto de la metformina en cáncer de mama triple negativo y estudiar las diferencias de expresión de microRNAs que generan resistencias a trastuzumab en cáncer de mama HER2+, así como estudiar su modo de transmisión entre células.

Se realizaron ensayos celulares tratando con metformina las líneas MDA-MB-231, MDA-MB-468 y MCF-7 así como sobreexpresando o inhibiendo miR-26a y se midieron sus dianas teóricas por qPCR. Para las líneas HER2+ se realizó un Affymetrix Genechip miRNA 4.0 microarray comparando líneas SKBR-3wt y BT-474wt con sus respectivas líneas con resistencia generada a trastuzumab y HCC-1954 como resistente innata. Se estudiaron los microRNAs más relevantes del array en las líneas celulares y en pacientes y se

comprobó su presencia en exosomas, así como el efecto de los exosomas en la transmisión de la resistencia.

La sobreexpresión de miR-26a resultó en una reducción en la viabilidad celular que se recuperó parcialmente al inhibirla. *E2F3*, *MCL-1*, *EZH2*, *MTDH* y *PTEN* fueron regulados negativamente por miR-26a y la proteína PTEN también se redujo tras la sobreexpresión de miR-26a. El tratamiento con metformina redujo la viabilidad de las células de cáncer de mama, aumentó la expresión de miR-26a y condujo a una reducción en la expresión de BCL-2, EZH2 y PTEN. La inhibición de miR-26a previene parte del efecto en viabilidad de la metformina y la reducción de la expresión de *PTEN* y *EZH2*. En las líneas HER2+, miR-23b-3p y miR-146a-5p fueron los principales candidatos extraídos del array. miR-23b-3p inhibió PTEN significativamente en la línea BT-474. miR-146a-5p aumentó la resistencia de las células SKBR-3 al trastuzumab y su inhibición redujo la resistencia de las SKBR-3r. El aumento de miR-146a-5p en SKBR-3wt tuvo un efecto en ciclo celular aumentando la fase S y la G2/M, inhibiendo la expresión de *CDKN1A* y aumentando la de *CCNB1*. Los exosomas de las SKBR-3 contenían miR-146a-5p, con mayores niveles en los de las resistentes (exoR). Los exoR aumentaron la resistencia a trastuzumab, la transición epitelio-mesenquimal y la migración al co-cultivarse con SKBR-3wt, y la angiogénesis en las HUVEC.

Nuestros resultados sugieren que el efecto de la metformina está mediado por una mayor expresión de miR-26a y reducción de sus dianas, *PTEN* y *EZH2*. Por tanto, el uso de metformina en el tratamiento del cáncer de mama constituye una prometedora potencial terapia. En HER2+, miR-23b parece provocar resistencia a trastuzumab vía PTEN y miR-146a a través del ciclo celular. Además, miR-146a se transmite en exosomas, que son capaces de reducir la sensibilidad al trastuzumab de las células sensibles y aumentar la TEM, migración y angiogénesis.