



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Búsqueda de posibles dianas terapéuticas para el cáncer papilar de tiroides
(PTC)

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención de título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Christian Orley Lagua Mainato
Tutor: Mg. Cristian Fernando Galarza Galarza

Ambato-Ecuador
Septiembre 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

MSc. Cristian Fernando Galarza Galarza

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 1 de agosto del 2022

Msc. Cristian Fernando Galarza Galarza

C.I. 1803160272

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Christian Orley Laguna Mainato, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Bioquímico, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Christian Orley Laguna Mainato

C.I. 1804381596

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, de la modalidad proyecto de investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Dr. Mario Daniel García Solís

1103605471

Dra. Lorena De Los Ángeles Núñez Villacís

1804256905

Ambato, 1 de septiembre 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above a horizontal line.

Christian Orley Laguna Mainato

C.I. 1804381596

AUTOR

DEDICATORIA

En cumplimiento a una promesa que le hice a mi abuela Luz María que fue como mi madre y que hasta el final de sus días estuvo conmigo, a ella se lo debo casi todo y a quien principalmente dedico este trabajo.

A mi padre Edwin que desde la distancia me ha enseñado que, aunque la vida golpee muy fuerte, siempre se puede poner la otra mejilla y seguir adelante luchando.

A mis hermanas Ibeth y Katherine que han estado de una u otra manera apoyándome en esta etapa importante de mi vida, y que además han sabido soportar a la persona que soy cuando las cosas no marchan bien.

A mis tíos quienes se han preocupado por mí y me han enseñado que las cosas en la vida se consiguen a base de mucho trabajo y sacrificio.

Pero sobre todo también a mí me dedico este trabajo recordando todo el esfuerzo, las noches largas y el sacrificio que muchas veces hice pensando en que llegaría este día.

Siempre me dije “Aun no estoy listo para darme por vencido”.

Así como a toda persona increíble que lucha contra el cáncer.

AGRADECIMIENTO

Agradezco todos los valores, principios y conocimientos que el Alma Mater Universidad Técnica de Ambato me ha brindado, especialmente la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, carrera de Ingeniería Bioquímica a través de la excelencia educativa que imparten los profesores.

De la misma manera agradecer a mi tutor de tesis Mg Cristian Galarza que me ha acogido como tesista y me ha guiado a través de su conocimiento, para poder desarrollar este trabajo de la mejor manera siempre con profesionalismo, compromiso y amabilidad.

Un caluroso y especial agradecimiento a mis amigos que hice en nuestra querida alma mater Adriana G., Daniel S. y Judith P. que siempre estuvieron alentándome, apoyándome y ayudándome, así como también para compartir momentos alegres, tristes e importantes en nuestras vidas.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Cáncer Papilar de Tiroides (PTC).....	1
1.1.2 Mecanismos Moleculares del Cáncer Papilar de Tiroides (PTC)	2
1.1.2. Enfoques terapéuticos.....	4
1.1.3. Bioinformática para el cáncer.....	6
1.2. Objetivos	10
1.2.1 Objetivo General	10
1.2.2 Objetivos Específicos.....	10
CAPITULO II.....	11
METODOLOGÍA	11
2.1 Materiales y equipos	11
2.1.1 Materiales.....	11
2.2 Métodos	12
2.2.1 Selección Bibliográfica	12
2.2.2. Obtención de genes.....	12

2.2.2.5. Selección de los genes más relevantes	14
2.2.3 Integración de los datos	14
2.2.4 Validación de genes seleccionados	15
2.2.5 Prueba de viabilidad de dianas terapéuticas	15
2.2.6 Búsqueda de moléculas con posible interacción frente a las dianas ...	15
2.2.7 Cribado Virtual	16
2.2.8 Análisis de la toxicidad de las moléculas	16
CAPITULO III.....	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
3.1 Análisis y discusión	18
3.1.1 Análisis de las bases de datos.....	18
3.1.2. Análisis de la integración de datos.....	26
3.1.3 Análisis de la validación de los genes seleccionados.....	30
3.1.4 Prueba de viabilidad de las dianas terapéuticas.....	32
3.1.5 Análisis del cribado virtual con MTiOpeenScreen	35
3.1.6 Análisis de la toxicidad de las moléculas	39
CAPITULO IV.....	49
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
4.1 Conclusiones	49
4.2 Recomendaciones	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ruta de activación de la vía de señalización BRAF/MAPK (Mitogen-activated protein kinase).....	19
Figura 2. Interacción molecular gen BRAF por Cytoscape.....	28
Figura 3. Edges con mayor participación en la interacción biológica del PTC con objetividad en BRAF	29
Figura 4. Pocket_0 de la probabilidad mayormente drugable de BRaf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Genes relacionados a la aparición de cáncer papilar de tiroides obtenidos de las bases de datos en relación gen-enfermedad.	20
Tabla 2. Genes élite seleccionados para la investigación y creación de red biológica de interacción por Cytoscape.....	23
Tabla 3. Genes de interacción en la aparición de PTC en cytoscape con Genemania	27
Tabla 4. Fármacos existentes y potenciales para combatir el PTC.....	30
Tabla 5. Cavidades puntuadas con probabilidad drugable de BRAF gen objetivo. .	32
Tabla 6. Fármacos con mejor energía de afinidad como posibles dianas terapéuticas para el PTC.	36
Tabla 7. Interpretaciones de datos	39
Tabla 8. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -13,2 a -11,6 kcal/mol Grupo 1	40
Tabla 9. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 2	42
Tabla 10. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 3	43
Tabla 11. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 4	44
Tabla 12. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 5	45
Tabla 13. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 6	46
Tabla 14. Posibles dianas terapéuticas encontrados para el tratamiento del cáncer papilar de tiroides.	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Búsqueda en MalaCards para PTC con genes elite	58
Anexo 2. Investigaciones relacionadas al PTC por genes élites previos.....	58
Anexo 3. Análisis de genes en Harmonizome.....	59
Anexo 4. Red de interacción biológica para PTC, gen BRAF como actor principal	59
Anexo 5. Validación de posibles fármacos disponibles	60
Anexo 6. Búsqueda y análisis de la cristalografía tridimensional del gen BRAF.....	60
Anexo 7. Búsqueda de pockets con mayor posibilidad drugable.....	61
Anexo 8. Cribado virtual con MtiOpeenScreen con parámetros de BRAF y BOX-GRID.	61
Anexo 9. Docking Molecular por MtiOpeenScreen	62
Anexo 10. QSAR-VEGA in silico evaluación de toxicidad de dianas obtenidas.	62

RESUMEN

En la búsqueda de posibles dianas terapéuticas mediante la química computacional para la enfermedad del cáncer papilar de tiroides (PTC), el diseño de fármacos con herramientas de docking se basa en el análisis del gen BRAF en donde principalmente se intenta identificar los mejores sitios de unión respecto a la estabilidad energética, por lo tanto el cribado virtual permitió comprobar la drugabilidad de dichos complejos que se crearan entre proteína y ligando, esto representa una potencial vía de investigación para el desarrollo de un fármaco óptimo y específico para dicha enfermedad.

El análisis dentro de las bases de datos de enfermedades como MalaCards, Harmonizome, KEGG, OMIM, Unitpro, Disgenet, GeneReviews y Orphanet permitieron conocer los principales genes que protagonizan el proceso de carcinogénesis en el PTC, ciertos genes presentaban disfunciones comunes de manera que fue posible agruparlos y categorizarlos para luego crear una red biológica de interacción con la ayuda de Cytoscape y posteriormente se investigó bibliográficamente las rutas metabólicas de estos genes y la relación entre estos.

De esta manera se identificó las mutaciones que presenta este gen objetivo y las alteraciones en su ruta metabólica, Finalmente se encontró las mutaciones que sufre el gen BRAF para posteriormente identificar posibles sitios drugables que puedan crear complejos proteína-ligando, de modo que los fármacos existentes en la actualidad fueron analizados mediante el cribado y posterior análisis de propiedades toxicológicas.

Por lo tanto, este estudio bioinformático permitió determinar que los ligandos Entrectinib, Bms-833923, Afacifenacin, Floxacrine, Olaparib, Nolpitantium, Aleplasinin presentan potencial farmacológico para el gen BRAF.

Palabras clave: Bioinformática, química computacional, cribado virtual, PTC, cáncer papilar de tiroides, diseño de fármacos, dianas terapéuticas, docking molecular.

ABSTRACT

In the search for possible therapeutic targets through computational chemistry for papillary thyroid cancer (PTC), the design of drugs with docking tools is based on the analysis of the BRAF gene, where the best binding sites are mainly identified. Regarding energy stability, therefore, the virtual screening allowed to verify the drugability of said complexes that were created between protein and ligand, this represents a potential avenue of research for the development of an optimal and specific drug for said disease.

The analysis within the databases of diseases such as MalaCards, Harmonizome, KEGG, OMIM, Unitpro, Disgenet, GeneReviews and Orphanet allowed to know the main genes that lead the carcinogenesis process in PTC, certain genes presented common dysfunctions so that it was possible to group and categorize them to then create a biological network of interaction with the help of Cytoscape and subsequently the metabolic pathways of these genes and the relationship between them were investigated bibliographically.

In this way, the mutations that this target gene presents and the alterations in its metabolic pathway were identified. Finally, the mutations that the BRAF gene suffers were found to subsequently identify possible drugable sites that can create protein-ligand complexes, so that the existing drugs currently they were analyzed by screening and subsequent analysis of toxicological properties.

Therefore, this bioinformatic study allowed to determine that the ligands Entrectinib, Bms-833923, Afacifenacin, Floxacrine, Olaparib, Nolpitantium, Aleplasinin present pharmacological potential for the BRAF gene.

Keywords: Bioinformatics, computational chemistry, virtual screening, PTC, papillary thyroid cancer, drug design, therapeutic targets, molecular docking.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Cáncer Papilar de Tiroides (PTC)

El cáncer papilar de tiroides es el tipo más común de cáncer de tiroides, de hecho, representa aproximadamente el 80% de todos los casos de cáncer de tiroides que se conocen en la actualidad. Y se caracteriza por el crecimiento desmedido de masa tumoral a partir de las células foliculares, ocasionalmente pueden progresar tanto hasta causar metástasis en otros órganos. Por desgracia es el octavo cáncer más común entre las mujeres y sobre todo en mujeres menores de 25 años, aunque los hombres presentan menor incidencia (**Kloos et al., 2010**), la mayoría de los pacientes lo presenta antes de los 40 años (**LiVolsi, 2011**). Quizás la relación más importante con respecto al posible desarrollo del cáncer de tiroides papilar en una persona es la asociación con la radiación ionizante, puesto que afecta directamente las células foliculares (**Cameselle & Sobrinho, 2018; Limaiem et al., 2021**). No obstante, también las concentraciones de yodo en la dieta parecen influir en la aparición y, en algunos casos, en la morfología de los carcinomas papilares (**Danilowicz K et al., 2020; Gullu et al., 2010**).

1.1.1.1. Epidemiología

En los últimos años con el aumento del uso de la radioterapia, se descubrió que los sobrevivientes de cánceres en varios órganos cuyo tumor había sido tratado con radiación ionizante desarrollaron cánceres papilares de tiroides, se cree probablemente como efectos secundarios. Estos se atribuyeron en parte al daño de los folículos tiroideos provocado por la radiación en el cuello, esto causó un hipotiroidismo relativo; las respuestas fisiológicas a esta disminución incluyeron una mayor secreción de tirotrópina hipofisaria (TSH). Se ha especulado que la estimulación de TSH del epitelio folicular dañado (rupturas en el ADN que conllevan a mutaciones y translocaciones) causa la transformación neoplásica de las células tiroideas.

Las estimaciones más recientes de la (**American Cancer Society, 2016**) para el cáncer de tiroides en los Estados Unidos consideran que para el 2021 habrá aproximadamente

44,280 casos nuevos de cáncer de tiroides tal que 12,150 se den en hombres y 32,130 en mujeres, mientras que en el peor de los casos aproximadamente 2,200 personas morirán comprendidos en 1,050 hombres y 1,150 mujeres. Por lo tanto, se valoró que la tasa de mortalidad por cáncer de tiroides aumentó ligeramente de 2009 a 2018 (0,6% por año) (**American Cancer Society, 2016**). Desde el año pasado en Ecuador el cáncer de tiroides ha pasado a ser el tercer tipo de cáncer más frecuente en mujeres detrás del cáncer de mama y cervix según lo reportado por el Servicio de Endocrinología de SOLCA Guayaquil (**Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2019**). Según datos oficiales de la OMS en 2020, la incidencia anual fue de 3 por 100.000 habitantes en el 2001 y aumentó a 22 por 100.000 habitantes en el 2016 manteniéndose sesgado para las mujeres en el Ecuador (**Bautista et al., 2021**).

1.1.2 Mecanismos Moleculares del Cáncer Papilar de Tiroides (PTC)

El cáncer papilar de tiroides (PTC) tiene una serie particular de oncogenes impulsores que conducen a la activación de la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), que está implicada en el crecimiento celular y la desdiferenciación. Las principales son: la mutación BRAF V600E y los genes de fusión RET/PTC y ETV6/NTRK3 (**Ramía de Cap, 2021**).

1.1.1.2. Mutación BRAF V600E

BRAF es una serina/treonina quinasa y un miembro de la vía MAPK. La vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) se activa fisiológicamente mediante la unión de factores de crecimiento a tirosina quinasas receptoras (RTK), como RET y NTRK, lo que da como resultado la dimerización y activación del receptor a través de la autofosforilación de residuos de tirosina en el dominio intracelular (**Loo et al., 2018**) & (**Kebebew et al., 2007**). El receptor activado, a través de una serie de proteínas adaptadoras, conduce a la activación del RAS ubicado en la cara interna de la membrana plasmática. Una vez activado el RAS se une a las proteínas RAF (principalmente BRAF en las células foliculares) y las recluta en la membrana plasmática. BRAF activado fosforila y activa la proteína quinasa activada por mitógeno/quinasa ERK (MEK), que también fosforila y activa la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK). Cuando el ERK se activa se

traslada al núcleo, donde regula la transcripción de los genes que participan en la diferenciación, proliferación y supervivencia celular (Xing, 2015). Las alteraciones de esta vía en el cáncer de tiroides pueden ocurrir a diferentes niveles y es el resultado de una mutación puntual o un reordenamiento en el que se ven involucrados los genes RET, RAS y BRAF. Por otro lado la mutación BRAF V600E es una transversión de timina a adenina en el nucleótido 1799, lo que da como resultado una sustitución de valina a ácido glutámico en el codón 600(p.V600E), que convierte la quinasa en una forma activa sin estímulo de RAS lo que conduce a una desregulación en el control de la proliferación celular. Esta mutación BRAF V600E es el cambio genético que más se ha encontrado en los PTC adultos (Kebebew et al., 2007).

1.1.1.3. Gen de fusión RET/PTC

RET es un receptor de tirosina quinasa transmembrana y por lo general no se expresa en las células foliculares de la tiroides. Sin embargo, el reordenamiento cromosómico, el dominio quinasa C-terminal de RET se une al dominio N-terminal de un gen asociado, y su promotor se encarga de impulsar la transcripción del gen de fusión llamado RET/PTC y es lo que generalmente se encuentra en los casos de PTC (Santoro et al., 2006). Hasta el momento, se han identificado al menos 19 tipos diferentes de genes quiméricos RET/PTC que difieren según los genes asociados. RET/PTC1 y RET/PTC3 son los tipos de asociación más comunes y representan más del 90 % de todos los RET/PTC (Prescott & Zeiger, 2015). El dominio N-terminal tiene una porción que promueve la dimerización y autofosforilación de residuos clave de tirosina ubicados en el dominio quinasa RET, lo que luego da como resultado la activación de la quinasa. La fusión deja intacto el dominio TK del receptor RET lo que permite que la oncoproteína RET/PTC se una a SHC y active la cascada RAS-RAF-MAPK. Varios estudios sugieren que los efectos oncogénicos de RET/PTC requieren ser guiados por BRAF a lo largo de la vía MAPK (Ciampi & Nikiforov, 2007). De hecho, el silenciamiento de BRAF en células tiroideas cultivadas revierte los efectos inducidos por RET/PTC, tales como la fosforilación de ERK, la inhibición de la expresión génica y el aumento de la proliferación celular (Fang et al., 2016).

1.1.1.4. La fusión ETV6/NTRK3

La fusión ETV6/NTRK3 también tiene un mecanismo de activación similar, entre el gen ETV6 en el cromosoma 12 y el gen NTRK3 en el cromosoma 15. NTRK3 también es un receptor de tirosina quinasa transmembrana, este gen está involucrado en procesos celulares neuronales. El terminal N de ETV6 tiene el dominio SAM, lo que promueve la dimerización y también da como resultado la activación constitutiva de la función quinasa de NTRK3 que a veces desemboca en la activación de la vía MAPK **(Bastos et al., 2018) & (Seethala et al., 2017)**.

1.1.2. Enfoques terapéuticos

En la actualidad aunque existen tratamientos que garantizan un pronóstico de curación muy esperanzador para el cáncer papilar de tiroides, estos están enfocados en la intervención quirúrgica **(Lewiński & Marcinkowska, 2015)**, algunas de estas metodologías permiten eliminar casi el total del carcinoma **(Kim et al., 2014)**, sin embargo, varias de estas alternativas suelen estar ligadas a secuelas posteriores e incluso a recurrencias que dependen del estado del cáncer de tiroides que se haya tratado, así como también al historial en radiación por anteriores tratamientos contra diferentes tumoraciones. Es así que estas pueden presentarse en mayor o menor magnitud y riesgo **(DeVita et al., 2015)**. Por lo tanto, varias líneas de investigación hoy en día se centran en el desarrollo de fármacos que respondan a los estudios de los reordenamientos cromosómicos de genes como RET y mutaciones en el gen BRAF, con el fin de producir un mecanismo inhibitorio en estos genes que codifican proteínas que regulan sistemas de proliferación de células y que pueden dar paso a la formación de los tumores **(Fagin, 2014; Limaiem et al., 2021)**.

1.1.3.1 Tratamiento con Yodo Radioactivo (RAI)

El yodo radiactivo (RAI) que es conocido también como I131 es un tipo de tratamiento con radioisótopos. Los radioisótopos son sustancias radiactivas que se administran por vía oral en pastillas. Aunque los radioisótopos se propagan por el cuerpo, estos son absorbido principalmente por las células tiroideas o las células cancerosas de tiroides.

El RAI mata estas células mientras deja otras células del cuerpo relativamente ilesas **(Goldsmith, 2017)**.

Por lo general se administra el yodo radioactivo para destruir pequeñas cantidades de células cancerosas restantes o tejido tiroideo sano que quedó posterior a la intervención quirúrgica, se recomienda sobre todo para los cánceres de tiroides papilares o foliculares que se han propagado a los ganglios linfáticos o que tienen un mayor riesgo de reaparecer después de la cirugía **(Klubo-Gwiezdzinska et al., 2012) & (Jhiang et al., 2021)**.

1.1.3.2 Compuestos contra BRAF V600E

Dabrafenib es un inhibidor selectivo y potente competitivo de ATP de BRAF V600E mutado (IC50 0,5 nM para V600E). En un ensayo clínico con 10 pacientes con BRAF V600EPTC con mutación, que nunca han estado expuestos a inhibidores de BRAF o MEK, fueron tratados con dabrafenib, 150 mg dos veces al día. El 60% de los pacientes se sometieron a captación de yodo radioactivo posteriormente. Seis meses después del tratamiento con yodo radioactivo después de dabrafenib, los seis pacientes mostraron una respuesta parcial en donde se reducía el problema y cuatro pacientes restantes tenían enfermedad estable a los 3 meses de seguimiento. Los efectos adversos más comunes observados fueron lesiones cutáneas, fatiga y anomalías diversas. A pesar de la efectividad observada en el 60 % de los pacientes tratados con dabrafenib, estos hallazgos sugieren que una terapia combinada dirigida a BRAF V600E y MEK tendría un mayor beneficio clínico **(Gonzalez-Cao et al., 2021), (Luebker & Koepsell, 2019) & (Hertzman Johansson & Egyhazi Brage, 2014)**.

1.1.3.4. Compuestos que combaten la fusión ETV6/NTRK3

La mayoría de los inhibidores tirosina quinasa de NTRK que se encuentran en desarrollo preclínico o uso clínico para el tratamiento de tumores malignos provocados por la fusión de NTRK son inhibidores de tipo I o competitivos con ATP que se unen preferentemente a la conformación DFG-in del dominio quinasa. Los inhibidores de NTRK de tipo I incluyen Larotrectinib o Taletrectinib. Ensayos de quinasa in vitro, que utilizan quinasa recombinante purificada establecieron que Altiratinib es un inhibidor potente de las quinasas NTRK1 NTRK3 pero que aún faltan estudios (**Bastos et al., 2018**) & (**Seethala et al., 2017**).

1.1.3.5. Compuestos que actúan contra RET/PTC

Lenvatinib es un inhibidor multiquinasa, dirigido a RET. Se realizó un ensayo clínico de fase 2 para evaluar la actividad antitumoral de Lenvatinib en el cáncer de tiroides avanzado. Se inscribieron 58 pacientes con cáncer de tiroides diferenciado refractario a RAI que no habían recibido ninguna terapia antiangiogénica dirigida en los últimos 30 días antes de la administración de Lenvatinib. El cincuenta por ciento de los pacientes tuvo una respuesta parcial, sin diferencias significativas entre los pacientes con terapia previa dirigida a VEGFR y los que no la recibieron. El cuarenta y tres por ciento de los pacientes tenía enfermedad estable a las 7 semanas y el 28% tenía una enfermedad estable duradera a las 23 semanas. Sin embargo, los efectos adversos más comunes fueron hipertensión, pérdida de peso, diarrea, fatiga, náuseas y pérdida del apetito (**Andreev-Drakhlin et al., 2012**), (**Samadi et al., 2012**) & (**Wirth et al., 2020**).

1.1.3. Bioinformática para el cáncer

La bioinformática del cáncer se centra en los últimos avances en el campo emergente de la medicina clínica, esta tecnología integra la biología de sistemas, la ciencia clínica, la tecnología basada en ómica, la bioinformática, la ciencia y química computacional para mejorar el diagnóstico, las terapias y el pronóstico del cáncer (**Wu et al., 2012**). Así como también el posible diseño de fármacos y dianas terapéuticas mediante interacciones biológicas y acoplamientos por modelamiento matemático.

Los avances tecnológicos en el análisis de ADN, ARN, proteínas, células y tejidos han acelerado el campo de la bioinformática en los últimos años, produciendo grandes cantidades de datos que reflejan la complejidad de los sistemas biológicos y cuán importante es abordar esta nueva línea de investigación que promete grandes cambios en la farmacología moderna (**Charoentong et al., 2012**).

1.1.4.1. Diseño de fármacos mediante química computacional

La química computacional en el desarrollo de fármacos está ganando cada vez más terreno dentro de los mecanismos utilizados para la identificación y búsqueda de dianas terapéuticas complejas, una de las principales estrategias para el diseño de estos compuestos con potencial farmacológico se basa en el Docking Molecular, esta es un técnica bioinformática que permite localizar sitios específicos de unión entre proteínas y en su mayoría ligandos, aunque no solo se limita a estos y sirve perfectamente como laboratorio virtual para analizar las interacciones que surgen entre estas moléculas de modo que el analizador es capaz de modificar parámetros fisicoquímicos a los que estarían regidos en la vida real estos compuestos, por lo tanto se logra obtener resultados muy fiables que posteriormente se puede contrastar con datos experimentales (**Yu & MacKerell, 2017**). Es así que se han diseñado varias herramientas que no solo permiten acoplar moléculas, si no que hoy en día es posible diseñar y modelar proteínas que no se encuentren en bases de datos a partir de otras ya existentes, es por esto que las investigaciones bioinformáticas se están centrando en la obtención de información acerca de la proteína, su sitio de unión y posibles ligandos que al acoplarse muestren cambios significativos en la función de la proteína una vez que se ha formado el complejo. Esto ayuda a simular procesos de inhibición de ciertas proteínas que son sobre expresadas en enfermedades cada vez más comunes como el cáncer, permitiendo así identificar una posible solución a modo de tratamiento (**Hanauer et al., 2015**) & (**Sabe et al., 2021**)

1.1.4.2. Virtual screening

Esta proyección virtual denominada técnica “in silico” es utilizada en el desarrollo de fármacos por química computacional ya que es aquí donde se evalúan las estructuras tridimensionales con el fin de obtener información sobre la susceptibilidad que presentaría la molécula al momento de interactuar con sus ligandos, así mismo permite conocer las alteraciones de estabilidad que esta sufriría, otra de las ventajas que presenta esta técnica es que una vez obtenidas las interacciones objetivo se pueden evaluar propiedades importantes como toxicología, selectividad, viabilidad, entre otras. Lo que al final resulta en un compuesto con potencial farmacológico **(Hanauer et al., 2007) & (Yang et al., 2012)**.

1.1.4.3. Docking molecular

Específicamente esta técnica evalúa las condiciones necesarias para la interacción entre pequeñas moléculas denominadas ligandos que están disponibles en bases de datos a nivel mundial y que podrían unirse en un sitio determinado a proteínas de interés que podrían ser inhibidas o activadas, el objetivo del docking es el acoplamiento molecular tridimensional guiándose de parámetros fisicoquímicos que experimentalmente ya se conocen como la fuerza de los enlaces, las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas, campos de fuerza, posibles ángulos de torsión en las isomerizaciones, etc **(Meng et al., 2011)**. El proceso de Docking normalmente se entiende en tres etapas que son: la preparación de las moléculas pequeñas en este caso ligandos, las moléculas grandes que son proteínas en su mayoría, luego el establecimiento del modo de acoplamiento donde siempre suele obtenerse buenos resultados con un proceso semiflexible, aunque existen los rígidos y flexibles. Y finalmente la selección del tipo de búsqueda sistemática **(Pagadala et al., 2017)**.

1.1.4.4. Preparación de las moléculas

Las estructuras tridimensionales preferentemente deben obtenerse mediante bases de datos oficiales ya que estas proporcionan archivos avalados bajo parámetros de cristalización y resolución, además todo esto con configuraciones óptimas de afinidad para ligandos que pueden ser o no naturales. Por lo general las bases de datos con

estructuras en formato .pdb optimas de estudio suelen ser Protein Data Bank (PDB) y Protein Data Bank in Europe Knowledge Base (PDBe-KB), sin embargo, ciertas proteínas que no se encuentran en estas bases de datos o que no han sido cristalizadas se pueden diseñar o recuperar de bases de datos de simulación en AlphaFold. Si bien casi todas las proteínas se encuentran en el PDB algunas de estas vienen dimerizadas, con interacciones de ligandos o con residuos de aminoácidos, incluso con partículas de agua, en estos casos hay que valerse softwares como Pymol o Chimera para liberar a la proteína de toda clase de interferencias y el mismo proceso se hace con el ligando, pero todo por separado (**Madhavi Sastry et al., 2013**).

1.1.4.5. Acoplamiento rígido o flexible

El tipo de acoplamiento molecular entre la proteína y el ligando por lo general debe ser un proceso semiflexible ya que la proteína como tal no puede desdoblarse o tener muchos grados de libertad al estar en su total estructura estable y con la mínima energía por lo tanto, el ligando es el que habrá de girar, rotar y ablandarse para el correcto acoplamiento en el sitio de unión de la proteína, para tal caso los ligandos a veces se encuentran en forma bidimensional que con ciertos softwares como Vina de Autodock se pueden convertir a estructuras tridimensionales, sin embargo un paso importante es agregarles libertad de torsión para que los ángulos que conforman esas moléculas pequeñas adquieran cierta energía y puedan desdoblarse de modo que es más practica la interacción posteriormente.

Sin embargo esto no ocurre en el acoplamiento rígido o flexible, ya que son procesos claramente determinados, en el acoplamiento rígido, no hay opción a la flexibilidad por ninguna parte de las moléculas, este técnica precisa encajar ligandos y proteínas específicas, por otro lado el acoplamiento flexible da total libertad a la alteración funcional que podría sufrir el complejo proteína-ligando y no es recomendable porque se pierde varios parámetros importantes a tomar en cuenta y además es un proceso que requiere de gran esfuerzo computacional (**Alogheli et al., 2017**) & (**Lexa & Carlson, 2012**)

1.1.4.6. Función de puntuación de interacción de complejo proteína-ligando

La puntuación que determina la drugabilidad del ligando que se ha unido a la proteína, depende de varios parámetros y algoritmos que se le otorgue al software ya sea Autodock u otro, ya que en este proceso el ligando no solo busca una forma de unirse a la proteína si no que se calcula una cantidad exagerada de posiciones por las cuales el ligando establecería contacto con la proteína, de modo que se evalúa grados de torsión, afinidad, fuerza de enlaces, distancia de los mismos y energía libre, de modo que las condiciones óptimas en la formación del complejo siempre estarían a favor de una menor energía libre (**Helgren & Hagen, 2017**).

1.2. Objetivos

1.2.1 Objetivo General

- Identificar nuevas dianas terapéuticas para el Cáncer Papilar de Tiroides mediante técnicas bioinformáticas que permitan el desarrollo de nuevos fármacos.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Comprender las principales bases genéticas del Cáncer Papilar de Tiroides enfocadas a la búsqueda de posibles dianas terapéuticas en diferentes bases de datos biológicos.
- Integrar los resultados de las bases de datos de enfermedades mediante el diseño de redes biológicas de interacción para los genes que presentan variantes, fusiones y mutaciones asociadas al Cáncer Papilar de Tiroides.
- Seleccionar las dianas terapéuticas candidatas mediante validación e identificación en la base de datos DrugBank.
- Verificar la viabilidad de las dianas terapéuticas en función de la estructura molecular obtenidas de la base de datos Protein Data Bank.
- Establecer las moléculas candidatas con los dominios seleccionados en la identificación de compuestos bioactivos con potencial uso en investigación, desarrollo y diseño de nuevos fármacos.

CAPITULO II

METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

2.1.1 Materiales

2.1.1.1. Softwares, websites y bases de datos para bioinformática:

- MalaCards
- OMIM
- HARMONIZOME
- Orphanet
- Disgenet
- Gene Reviews
- Drugbank
- PreoteinPlus
- AlphaFold
- GeneCards
- Protein Data Bank
- Protein Data Bank in Europe Knowledge Base
- AutoDock Tools
- AutoDock Vina
- Cytoscape (GeneMania)
- MTIOpenScreen
- QSARVega

2.1.2 Equipos

PC personal

2.2 Métodos

2.2.1 Selección Bibliográfica

La investigación se valió de bases de datos de enfermedades como MalaCards, KEGG, GeneCards, Disgenet, Orphanet, NCBI, PubMed, Scielo, Nature para recopilar información acerca de las bases moleculares de la enfermedad del cáncer papilar de tiroides PTC para entender las modificaciones y disfunciones que sufren los genes en este proceso.

2.2.2. Obtención de genes

2.2.2.1 MalaCards

Dentro de los datos arrojados para la búsqueda de cáncer papilar de tiroides PTC se identificó opción con más asertividad a la enfermedad, consecuentemente se seleccionó la entrada Thyroid Cancer, Nonmedullary, 1 (NMTC1) con grandes interacciones y congruencias con Papillary Carcinoma of Thyroid que incluso esta indexado en el apartado de sinónimos para esta enfermedad con una puntuación de MIFTS de 56, estos valores refieren a el nivel de información que posee la entrada en la base de datos.

2.2.2.2 Harmonizome

La base de datos Harmonizome posee librerías de gene y librerías de enfermedades relacionadas con genes de modo que se eligió la opción “gene set” con entrada de la enfermedad PTC en inglés: papillary thyroid cancer. Los resultados mostraron que hay mucha información incompleta dentro de la base de datos al evaluar cada una de las opciones obtenidas, sin embargo, se procedió al análisis de la entrada “papillary thyroid carcinoma” para evaluar gen por gen las similitudes y congruencias con la anterior revisión en Malacards de modo que se seleccionó los genes que comparten interacción y sobre los que se tuvo puntuación con el fin de evaluar en un posterior análisis.

2.2.2.3 OMIM

Al ingresar el nombre y las palabras claves para la búsqueda en esta base de datos se evidenció que hay escasas de especificidad para esta enfermedad, de modo que se seleccionó la entrada similar a la de Malacards que fue THYROID CANCER, NONMEDULLARY, 1; NMTC1 sin embargo, esta presenta solo un gen el cual fue NKX2-1, que concuerda y corresponde con la información del cáncer papilar de tiroides así que se analizó la información de ese gen en este portal y se consideró para las futuras interacciones y congruencias en la participación de la enfermedad objetivo de estudio.

2.2.2.4. KEGG

Esta base de datos aportó información valiosa sobre las rutas metabólicas tanto de la enfermedad como de los genes participantes en las cascadas que desembocan las disfunciones y desregulaciones en el proceso de carcinogénesis de PTC, la ruta general de la PTC sugiere un proceso un poco simple y no posee varios de los genes reportados en literatura sin embargo dio una clara idea de cómo intervienen los genes más representativos en la enfermedad.

2.2.2.5 Disgenet y Orphanet

Al introducir “papillary thyroid cáncer” las entradas arrojadas por Disgenet base de datos fue positiva ya que posee una amplia biblioteca de genes reportados con relación al cáncer papilar de tiroides entre los cuales se encontró la mayoría de genes expuestos por Malacards y además con una breve descripción de los mismos y más información a través de un indexado a NCBI, de la misma manera Orphanet en sus resultados mostró varios artículos de interés relacionados al cáncer de tiroides y otros carcinomas con varios de los genes antes ya encontrados.

2.2.2.5. Selección de los genes más relevantes

En función del score obtenido para cada gen por las diferentes bases de datos, también tomando en cuenta la relación gen-enfermedad, además de la congruencia con otros genes y con información de literatura reportada, se procedió a la selección de los genes que se consideran más relevantes en el cáncer papilar de tiroides, de estos se caracterizaron en grupos de acuerdo a su disfunción y relación existente. De modo que las disfunciones que presentaron y por las cuales se clasificaron son: reordenamiento cromosómico, desregulación en la actividad transcripcional y activación de señalización descontrolada.

2.2.3 Integración de los datos

Con la ayuda del programa Cytoscape con plugin GeneMania especializado en recopilación de genes, se generó una red biológica de interacción con la entrada de los genes seleccionados como representativos para PTC, por lo tanto, se estableció una hipótesis para determinar los principales genes para priorizar en su investigación.

Se realizó los siguientes pasos:

- a. Ingreso de datos de genes mutados en Cytoscape y selección de modo Homo sapiens.
- b. Generación de red biológica de interacción mediante plugin GeneMania dentro de Cytoscape.

Una vez generada la red de interacción se consideró los genes con interacción más fuerte basándose en los nodos que los constituían ya que la interacción no mostro mucho reconocimiento de los genes expuestos y a su vez arrojó genes adicionales que verificados bibliográficamente constituyen genes de enfermedades ajenas a el cáncer papilar de tiroides de manera que solo se tomó en cuenta tres genes por su interacción y puntuación con más nodos, estos fueron BRAF, RET y TP53.

2.2.4 Validación de genes seleccionados

En la base de datos del DrugBank con entrada de cada uno de los nombres y sinónimos de los genes respectivos se investigó posibles opciones farmacológicas y ligandos. Se obtuvo varios resultados con ciertos fármacos disponibles y otros en fase de desarrollo, así como también en fase experimental. Sin embargo, algunas opciones para el caso de TP53 y BRAF en su mayoría no se sabe que función específica cumplen, de modo que constituyen una oportunidad para la aportación de más dianas terapéuticas para el tratamiento del PTC.

2.2.5 Prueba de viabilidad de dianas terapéuticas

Para identificar la drugabilidad que existe en los dominios de las proteínas objetivo se utilizó la web Protein Plus que pertenece a la Universidad de Hamburgo y que permite mapear la proteína a través del código proporcionado por el PDB, una vez ingresado el código de la molécula receptor se seleccionó la herramienta DoGSiteScorer siendo esta una de las múltiples herramientas con las que cuenta. Los parámetros de DoGSiteScorer permiten la predicción de interacciones de las dianas con otras moléculas como ligandos, proteínas además de interacciones por puentes de hidrogeno, todo esto en un entorno de modelado 3D por lo que se procedió a obtener el grado de drugabilidad y con este seleccionar el mejor puntuado asimilando como optimo sitio de unión.

Posteriormente el gen BRAF evaluado con DoGSiteScorer mostro la mejor configuración posible para el segmento P_2 con capacidad volumetrica de 1192,96 Å³, profundidad de 1489,14 Å² y un potencial drugable de 0,81.

2.2.6 Búsqueda de moléculas con posible interacción frente a las dianas

Se calculó mediante AutoDockTools las cordenadas de la Box Grid tanto para las dimensiones como para la localización espacial del sitio de unión con los restos de aminoácidos puntuales especificados con este mismo software, de modo que se situó la Grid dentro del área de dominio más probable para que exista una interacción de proteína-ligando obteniéndose así los valores para la Grid Box de:

Dimensiones de la Grid Box BRAF:

X= 58

Y=52

Z=52

Dimensión de localización espacial Grid Box BRAF:

X= 3.0

Y= 24.00

Z= -46.109

2.2.7 Cribado Virtual

Para que el cribado por Vina que está incorporado a MIOpenScreen obtenga los mejores resultados se utilizó la estructura tridimensional procesada, esto quiere decir que se eliminó cualquier tipo de residuo indeseable, así como también moléculas de agua y posibles ligandos que vinieron adherida a las proteínas cristalizadas que fueron descargadas del PDT. Una vez cargado el archivo en formato .pdb en la web se seleccionó Custom parameters para poder introducir así las coordenadas del sitio de unión tanto en dimensiones como en localización espacial que fueron determinados por la Grid Box en AutodockTools.

2.2.8 Análisis de la toxicidad de las moléculas

Se utilizó el software Vega de modelos QSAR con el fin de evaluar la actividad biológica que estos ligandos producen una vez se ha formado el complejo proteína-ligando, estas evaluaciones son sometidas a filtros algorítmicos en función de análisis fisicoquímicos, estructura química y otros. Posteriormente estos se filtraron a través de pruebas de interés entre las que destacan mutagenicidad, hepatotoxicidad y carcinogénesis mediante los códigos Simplifiel molecular-input line-entry system (SMILES) de dichos fármacos.

Finalmente, estas propiedades de cada molécula se analizaron y se verificaron bibliográficamente para la confirmación de la posible viabilidad en los fármacos obtenidos.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión

3.1.1 Análisis de las bases de datos

La extracción de 34 genes de la plataforma Malacards sugirió como punto de inicio tomar las interacciones referentes que se analizan como “gen y enfermedad” y que comprometen de una u otra manera los genes propuestos por este sitio web como piezas fundamentales en la búsqueda de posibles dianas terapéuticas para tratar el cáncer papilar de tiroides, por lo mismo se tiene un score que indica que varios estudios e investigaciones previos corroboran el protagonismo de genes como el BRAF, TP53 y NKX2-1 en el desencadenamiento de esta enfermedad. Sin embargo, más allá de esta base de datos, investigaciones en la misma línea sugieren que hay más genes que pueden estar interactuando en las complicaciones que desencadenan el PTC, lo que conllevó a una exhaustiva búsqueda por otras bases de datos como OMIM, Harmonizome, KEGG, Orph, Genes Reviews y Disgenet con el fin de verificar estos datos, donde efectivamente varios de estos genes previamente obtenidos tenían relación directa o indirecta con PTC. Luego de un análisis para discernir los elementos necesarios para la presente investigación se seleccionó 24 genes que a priori pueden agruparse por tipos de disfunciones, esto con el fin de entender de mejor manera la interacción molecular que puedan tener estos. En la figura 1 las rutas metabólicas proporcionadas por el KEGG mostraron claramente que existe una intervención clave del gen BRAF para la excesiva activación de la vía de señalización BRAF/MAPK, Por lo tanto, la mutación BRAF juega un papel central en la tumorigénesis y el desarrollo de PTC.

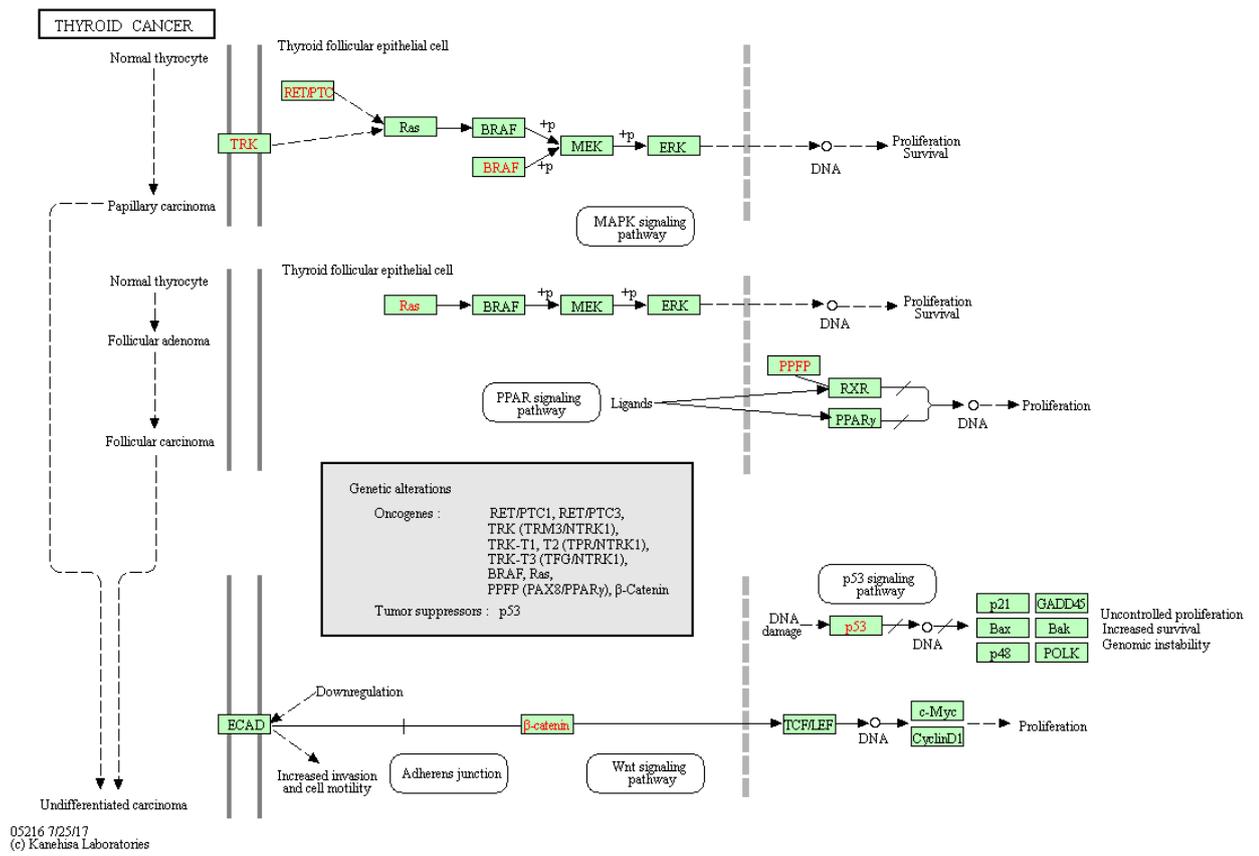


Figura 1. Ruta de activación de la vía de señalización BRAF/MAPK (Mitogen-activated protein kinase)

Tabla 1. Genes relacionados a la aparición de cáncer papilar de tiroides obtenidos de las bases de datos en relación gen-enfermedad.

#	Genes	Disfunción	Proteína	DATABASE						
				MalaC.	OMIM	Harmoni	KEGG	Orph	Gene R.	Disgenet
1	NKX2-1 *	Irrupción de actividad transcripcional	NK2 Homeobox 1	1358,91	si	1,36684	si	si	600635	0,7
2	BRAF *	Activación descontrolada de señalización MAPK	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase	421,89	si	1,29047	si	si	164757	0,9
3	RET*	Reordenamiento cromosómico	Ret Proto-Oncogene	458,85	si	2,44083	si	si	164761	0,6
4	MIR221 *	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 221	400	no	1,103	no	no	300568	0,1
5	MIR222*	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 222	400	no	no	no	si	300569	0,1
6	SFTA3*	fusión a BRAF - surfactación tensión ocular	Surfactant Associated 3	400	no	no	no	no	no	no
7	TP53*	(Regulación) actividad transcripcional	Tumor Protein P53	400	no	no	no	si	191170	no
8	MIR146A*	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 146a	350	no	no	no	no	610566	0,01

9	APELA	Renovación células madre	Apelin Receptor Early Endogenous Ligand	150	no	no	no	no	no	no
10	BANCR	Activación descontrolada de señalización MAPK	BRAF-Activated Non-Protein Coding RNA	150	no	no	no	no	no	0,01
11	CCND2-AS1	Supresión de tumores, regular la expresión de N-cadherina y vimentina	CCND2 Antisense RNA 1	150	no	no	no	no	no	0,01
12	DCTN1-AS1	(Regulación) actividad transcripcional	DCTN1 Antisense RNA 1	150	no	no	no	no	no	no
13	GAS8-AS1	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	GAS8 Antisense RNA 1	150	no	no	no	si	no	0,35
14	H19	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript	150	no	no	no	si	103280	no
15	HAGLROS	(Regulación) actividad transcripcional	HAGLR Opposite Strand LncRNA	150	no	no	no	no	618209	no
16	HOTAIR	(Regulación) actividad transcripcional	HOX Transcript Antisense RNA	150	no	no	no	no	no	0,02
17	HOTTIP	Regulación de la vía miR-615/IGF-2	HOXA Distal Transcript Antisense RNA	150	no	no	no	no	no	0,01
18	HULC	(Regulación) actividad transcripcional	Hepatocellular Carcinoma Up-Regulated Long Non-Coding RNA	150	no	no	no	no	612210	no
19	LINC-ROR	(Regulación) actividad transcripcional	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA, Regulator Of Reprogramming	150	no	no	no	no	si	no

20	LNCNEF	(Regulación) actividad transcripcional	LncRNA Neighboring Enhancer Of FOXA2	150	no	no	no	no	no	no
21	LOC729966	-	Uncharacterized LOC729966	150	no	no	no	no	no	no
22	MALAT1	(Regulación) actividad transcripcional	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1	150	no	no	no	no	si	0,03
23	MEG3	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	Maternally Expressed 3	150	no	no	no	si	no	no
24	NAMA	-	Non-Protein Coding RNA, Associated With MAP Kinase Pathway And Growth Arrest	150	no	no	no	no	no	0,01
25	NEAT1	(Regulación) actividad transcripcional - mediante la modulación de la expresión de miR-129-5p / KLK7	Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1	150	no	no	no	no	612769	0,04
26	PTCSC1	Pertenece a lncRNA	Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 1	150	si	no	no	no	no	no
27	PTCSC2	Pertenece a lncRNA	Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 2	150	no	no	no	no	no	0,03
28	PTCSC3	Pertenece a lncRNA - regula FOXE1 en el locus de riesgo de cáncer de tiroides 9q22	Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3	150	si	no	no	no	614821	0,34
29	PVT1	Pertenece a lncRNA (Regulación) Inhibe la progresión tumoral	Pvt1 Oncogene	150	no	no	no	no	165140	0,01

30	SNHG12	Pertenece a lncRNA (Regulación) actividad transcripcional	Small Nucleolar RNA Host Gene 12	150	si	no	no	no	no	0,03
31	TRIM36-IT1	Pertenece a lncRNA	TRIM36 Intronic Transcript 1	150	no	no	no	no	no	no
32	MIR138-1	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 138-1	50	si	no	no	no	613394	no
33	MIR138-2	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 138-2	50	no	no	no	no	no	no
34	MIR146B	(Regulación o expresión aberrante) actividad transcripcional	MicroRNA 146b	50	si	no	no	no	610567	0,1

Tabla 2. Genes élite seleccionados para la investigación y creación de red biológica de interacción por Cytoscape

#	Genes	Disfunción	Proteína
1	NKX2-1 *	Irrupción de actividad transcripcional	NK2 Homeobox 1
2	BRAF *	Activación descontrolada de señalización MAPK	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase

3	RET*	Reordenamiento cromosómico	Ret Proto-Oncogene
4	SFTA3*	Fusión a BRAF - sulfatación tensión ocular	Surfactant Associated 3
5	MIR221 *	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 221
6	MIR222*	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 222
7	TP53*	(Regulación) actividad transcripcional	Tumor Protein P53
8	MIR146A*	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 146a
9	BANCR	Activación descontrolada de señalización MAPK	BRAF-Activated Non-Protein Coding RNA
10	GAS8-AS1	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	GAS8 Antisense RNA 1
11	H19	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript
12	HOTAIR	(Regulación) actividad transcripcional	HOX Transcript Antisense RNA
13	HULC	(Regulación) actividad transcripcional	Hepatocellular Carcinoma Up-Regulated Long Non-Coding RNA
14	LINC-ROR	(Regulación) actividad transcripcional	Long Intergenic Non-Protein Coding RNA, Regulator Of Reprogramming

15	LNCNEF	(Regulación) actividad transcripcional	LncRNA Neighboring Enhancer Of FOXA2
16	MALAT1	(Regulación) actividad transcripcional	Metastasis Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1
17	MEG3	(Regulación) actividad transcripcional - supresor de tumores	Maternally Expressed 3
18	NEAT1	(Regulación) actividad transcripcional - mediante la modulación de la expresión de miR-129-5p / KLK7	Nuclear Paraspeckle Assembly Transcript 1
19	PTCSC3	Pertenece a lncRNA - regula FOXE1 en el locus de riesgo de cáncer de tiroides 9q22	Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3
20	PVT1	Pertenece a lncRNA (Desregulación) Inhibe la progresión tumoral	Pvt1 Oncogene
21	SNHG12	Pertenece a lncRNA (Desregulación) actividad transcripcional	Small Nucleolar RNA Host Gene 12
22	MIR138-1	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 138-1
23	MIR138-2	(Regulación) actividad transcripcional	MicroRNA 138-2
24	MIR146B	(Regulación o expresión aberrante) actividad transcripcional	MicroRNA 146b

Los registros en la tabla 1 exponen 34 genes que comparten relación en cuanto a la disfunción que previamente se ha identificado, no obstante, varias de estas similitudes aún están en etapas tempranas de investigación y requieren varias fases de estudio antes de confirmar que todas estas justifican la posible aparición del PTC ya que algunas ni siquiera se han probado con análisis experimentales, registros o historiales clínicos, pero se tienen simulaciones y predicciones. El principal fenómeno que se tiene identificado como un propulsor para el PTC es el desencadenamiento de la cascada MAPK por sus siglas en inglés y que hace referencia a la vía de activación de la proteína quinasa que se activa por mitógeno, esta proteína es la responsable de direccionar varios de los estímulos de las respuestas celulares y en la gama de estos se tiene el estrés osmótico, citosinas pro-inflamatorias, choque térmico, etc. **(Loo et al., 2018) & (Kim et al., 2014)**. Adicionalmente se ha identificado el papel crucial que juega el gen BRAF dentro de este acontecimiento por lo que es un candidato idóneo en esta investigación ya que se cuenta con datos recopilados a lo largo de mucho tiempo. Por otro lado, la falta de datos validados sobre genes como APELA, CCND2-AS1, DCTN1-AS1, HALGROS, HOTTIP, LOC729966, NAMA, PTCSC1, PTCSC2, y TRIM36-IT1 puede sesgar la búsqueda de dianas en un sentido incorrecto por lo que se descartó la incorporación de estos.

3.1.2. Análisis de la integración de datos

Las disfunciones clave para relacionar la aparición del cáncer papilar de tiroides entre los genes élite son la activación descontrolada de señalización MAPK y los cambios en las regulaciones transcripcionales que sufren estos genes, que en su mayoría son reordenamientos cromosómicos o fusiones a otros genes para finalmente corromper alguna actividad propia y desembocar en MAPK **(Borrelli et al., 2019)**. Los análisis presentados por la interacción de la red biológica mediante Cytoscape mostraron una reducción inesperada de los genes élite antes seleccionados, así como la aparición de otros que investigados en literatura y ensayos experimentales poco tienen que ver con el inicio del cáncer papilar de tiroides. Sin embargo, los resultados demuestran que fuertes interacciones se hallan en las zonas de nodos por los cuales se atraviesa tanto

BRAF como TP53, este último es el que codifica para una proteína supresora de tumores (McFadden et al., 2014).

Tabla 3. Genes de interacción en la aparición de PTC en cytoscape con Genemania

gene name	log score	score
DOK5	-632.658.816.139.027	0.0017881241645338886
MAPK3	-6.295.617.918.361.390	0.001844369271206181
RARA	-6.250.014.807.035.960	0.0019304255521355174
OIP5	-61.888.320.660.196.900	0.0020522222141929336
KSR2	-6.172.914.034.073.060	0.0020851509379006816
ARAF	-6.156.834.783.646.080	0.002118949602409048
GATA6	-6.133.434.691.612.320	0.0021691179003381356
RPL13A	-6.091.241.193.218.310	0.0022625988489106685
CUL9	-6.084.301.133.404.510	0.002278356034918827
SGMS1	-6.063.305.147.376.540	0.002326698085020784
RAF1	-6.055.695.514.241.350	0.002344470940555732
HINFP	-6.021.909.754.861.960	0.002425033949584654
MAP2K2	-59.713.659.996.638.800	0.0025507547080383386
SHC3	-5.932.045.894.684.170	0.0026530485745993593
KRAS	-5.830.913.853.573.230	0.0029353932345387856
GFRA1	-5.760.649.684.836.510	0.0031490650339037196
NCOA2	-56.993.924.031.869.400	0.0033479990731664633
CCDC59	-5.507.710.627.808.340	0.004055381040325712
MDM2	-5.402.499.387.022.330	0.00450530635446833
MAP2K1	-5.166.079.905.419.720	0.0057068966015554334
TP53	-0.2627377016520788	0.7689435634879991
BRAF	-0.1179252829686207	0.8887624558261618
NKX2-1	-0.07104976019649266	0.931415543553981

RET	-0.06850926676729714	0.9337848068969181
APELA	-0.0025692477795969176	0.9974340499126788
SFTA3	-3,29E+02	0.9999999999999671

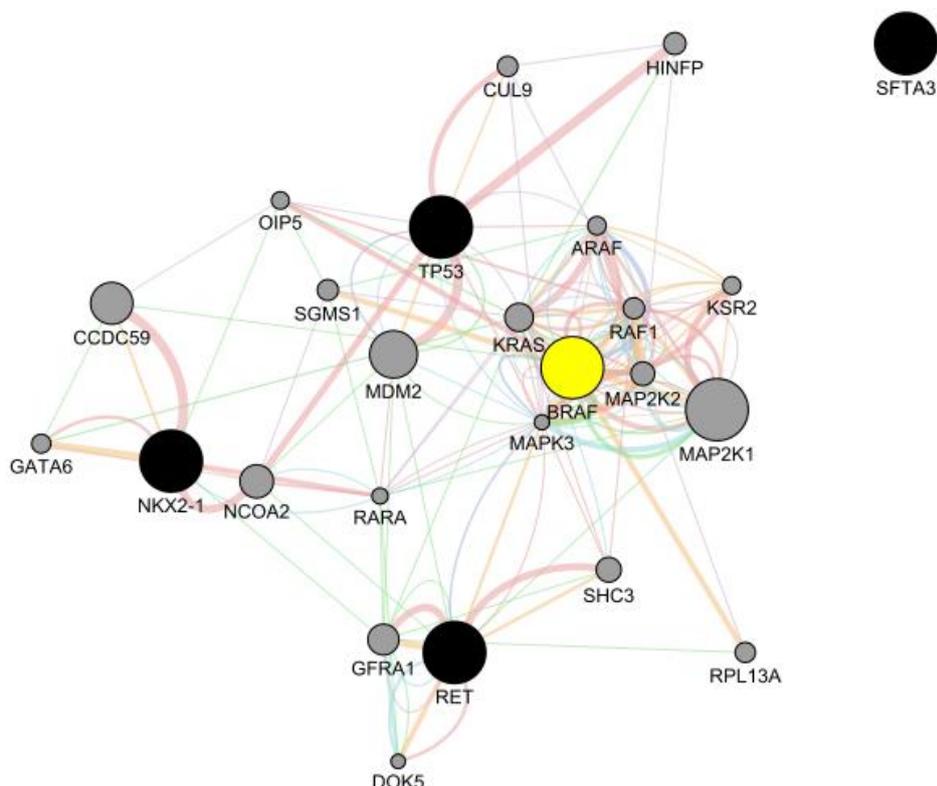


Figura 2. Interacción molecular gen BRAF por Cytoscape

Los resultados muestran que en la interacción de los genes objetivo conjuntamente con genes añadidos automáticamente por genemania crean 26 nodes y 167 edges, visiblemente se aprecia una gran cantidad de edges en la zona del gen BRAF es así que en la figura 2 se confirma la presencia de 28 edges que ligan al protagonismo de la vía de señalización MAPK a dicho gen. Mientras que para el gen TP53 se tiene 15 edges, datos validados afirman que también es un gen importante dentro del PTC. Adicionalmente se encuentran en gran interacción nodos como los generados por

MAP2K1, MAP2K2 y MAPK3, claramente estos confirman la relación que existe entre la activación de la vía de señalización con el gen BRAF que se tomó como objetivo fundamental por su participación en la aparición del PTC cuando ocurre una mutación dentro de este y de la cual se conoce como BRAFv666e (Yaeger & Corcoran, 2019).

El BRAF con mutación V600E es provocada por la mutación de valina a ácido glutámico en la posición 600 se encuentra en más del 50% de los tumores malignos de tiroides en general. La mayoría de las mutaciones en el cáncer de tiroides involucran las vías de señalización MAPK y PI3K-AKT. El gen BRAF es una serina-treonina quinasa que se transloca a la membrana celular posterior a unirse y activarse por RAS, esto da como resultado la fosforilación y activación de la proteína quinasa activada por mitógeno o MAPK y otros procesos aguas abajo de la vía de señalización (Loo et al., 2018). Según los estudios actuales, la mutación BRAF existe exclusivamente en PTC y cáncer de tiroides anaplásico ATC derivado de PTC y no se tiene evidencia en otros tipos histológicos de cáncer de tiroides como el cáncer de tiroides folicular FTC o el cáncer de tiroides medular MTC (Kim et al., 2014).

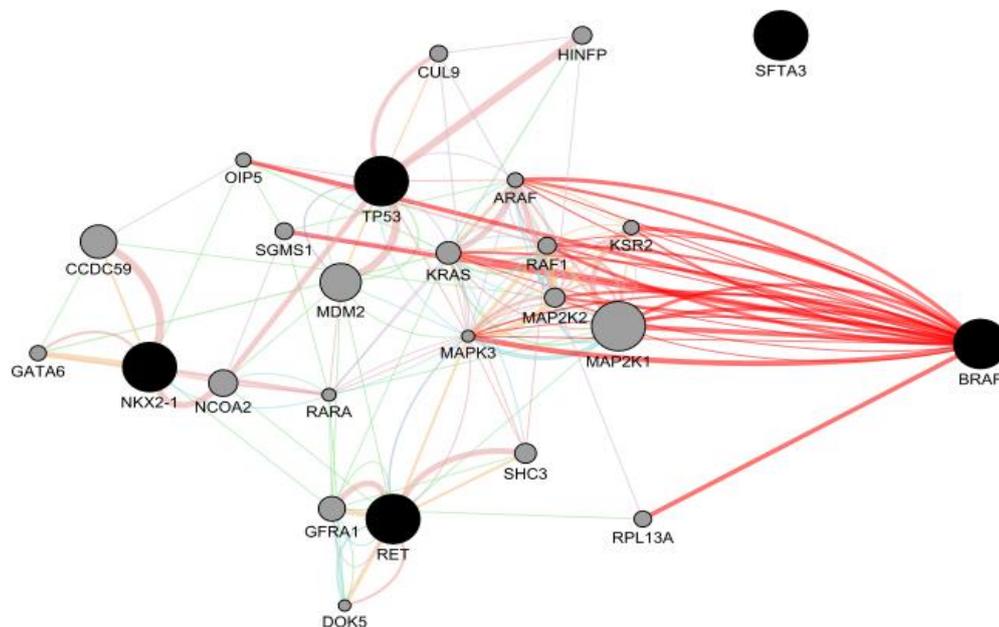


Figura 3. Edges con mayor participación en la interacción biológica del PTC con objetividad en BRAF

3.1.3 Análisis de la validación de los genes seleccionados

Varios de los genes propuestos para la investigación han sido estudiados y algunos de estos presentan fármacos asociados a diferentes enfermedades que posiblemente contribuyen a su tratamiento, por lo tanto, existió la necesidad de una exhaustiva búsqueda en la base de datos Drugbank y otras plataformas para evidenciar la existencia de estas dianas en forma de fármacos. En la tabla 4 se exponen los genes objetivo seleccionados con posibles fármacos, así como también su acción terapéutica en el PTC.

Tabla 4. Fármacos existentes y potenciales para combatir el PTC.

#	Genes	Fármacos asociados al gen	Diana	Aplica en PTC
1	NKX2-1	-	No	-
2	BRAF	12	Si	Si
3	RET	11	Si	Si
4	MIR221	-	No	-
5	MIR222	-	No	-
6	SFTA3	-	No	-
7	TP53	8	Si	Si
8	MIR146A	-	No	-
9	BANCR	-	No	-
10	GAS8-AS1	-	No	-
11	H19	-	No	-
12	HOTAIR	probable	No	No
13	HULC	-	No	-
14	LINC-ROR	-	No	-
15	LNCNEF	-	No	-
16	MALAT1	probable		No
17	MEG3	-	No	
18	NEAT1	probable		No

19	PTCSC3	-	No	-
20	PVT1	-	No	-
21	SNHG12	-	No	-
22	MIR138-1	-	No	-
23	MIR138-2	-	No	-
24	MIR146B	-	No	-

La tabla 9 describe algunos de los fármacos y ligandos que se han encontrado como posible tratamiento cuando ha aparecido el cáncer papilar de tiroides, sin embargo, muchos de ellos incluso se emplean en otro tipo de tratamientos, lo que no es exclusivo del PTC y que demuestra una falta de investigación dentro de la comunidad científica e incluso cuando ya se están estudiando no superan los filtros de validación al estar en fases experimentales (**Wang et al., 2017**), algunos de estos fármacos encontrados son ligandos que se proponen para hacer las interacciones moleculares ya sea por Docking Molecular o análisis matemático , por lo tanto representa una manera oportuna de contrastar con el resultado del cribado virtual más adelante expuesto. Adicionalmente varios de los fármacos encontrados tales como el Sorafenib, Fostamitinib o Dabrafenib son utilizados en el tratamiento de varios canceres bien diferencias, quizá el más puntual referente al tratamiento para PTC sea el Zelboraf, este incluso se puede encontrar en el mercado como producto de laboratorios Roche en presentación de capsulas de 240mg, su principio activo es Vemurafenib y que de igual manera comparte propiedades similares a los otros ya mencionados en cuanto a la inhibición de BRAF independientemente del carcinoma que se esté tratando (**Park et al., 2021**).

3.1.4 Prueba de viabilidad de las dianas terapéuticas

Entendiendo que el principal proceso a abordar es la señalización MAPK por la mutación del gen BRAF se procedió a la evaluación de una zona probablemente drugable con el fin de encontrar las mejores cavidades posibles en las que pueda encajar un ligando y cambie así el comportamiento estructural y funcional del gen cuando codifica sus proteínas. Esta estructura se tomó con una búsqueda previa por la plataforma del instituto de genómica de la Universidad de California Santa Cruz (UCSC) para valorar qué modelo es más estable y este respaldado por ensayos experimentales. Es así que se seleccionó como el mejor candidato a la estructura **(Homo sapiens B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase (BRAF), transcript variant 13, mRNA)** por ser la más estándar y con gran aceptabilidad en el ensamblaje humano Feb.2009(GRCh37/hg19). Se realizó la búsqueda del modelo tridimensional **4MNF** en el Protein Data Bank mediante secuenciación genómica para asegurar una búsqueda lo más cercana al objetivo y de ahí procesar el PDB del gen BRAF. Finalmente utilizando DoGSiteScorer se probó la drugabilidad de la estructura del gen BRAF para una sola cadena procesándola y limpiándola con el fin de reducir el exceso de residuos de aminoácidos, moléculas de agua y sobretodo pequeños ligandos que pueden estar interactuando previamente **(Madhavi Sastry et al., 2013)**.

Tabla 5. Cavidades puntuadas con probabilidad drugable de BRAF gen objetivo.

Nombre	Volumen Å ³	Surface Å ²	Drug Score
P_0	1192,96	1489,14	0,81
P_1	288,9	455,06	0,73
P_2	225,54	462,81	0,54
P_3	202,75	441,9	0,44
P_4	186,11	303,84	0,43
P_5	161,6	406,03	0,27
P_6	147,26	343,79	0,31

En la tabla 10 se observan los tres principales sitios drugables aceptables para una posible interacción mediante docking o búsqueda por cribado en MTIOpenScreen ya que en una escala que va desde el 0 hasta el 1, una de las consideraciones que se debe tomar es que el drug score no debe ser menor a 5 (**Volkamer et al., 2012**) & (**Volkamer et al., 2012**), basado en eso se estimó el mejor sitio drugable como el pocket_0 al observar que la estructura presenta una cavidad volumétrica de 1192,96 Angstroms cúbicos y una superficie de 1489,14 Angstroms cuadrados, por lo tanto es el sitio drugable que se consideró para los análisis puesto que la drugability es directamente proporcional al espacio de la pocket, por lo tanto es el punto idóneo donde las posibles dianas que puedan interactuar y sean una opción de estudio para la vía de señalización de la kinasa activado por mitógeno en el cáncer papilar de tiroides. En la figura 6 se muestra la estructura modificada del gen BRAF encontrada como 4MNF en PBD y modificada a una sola cadena para evaluarla en el DoGSiteScorer.

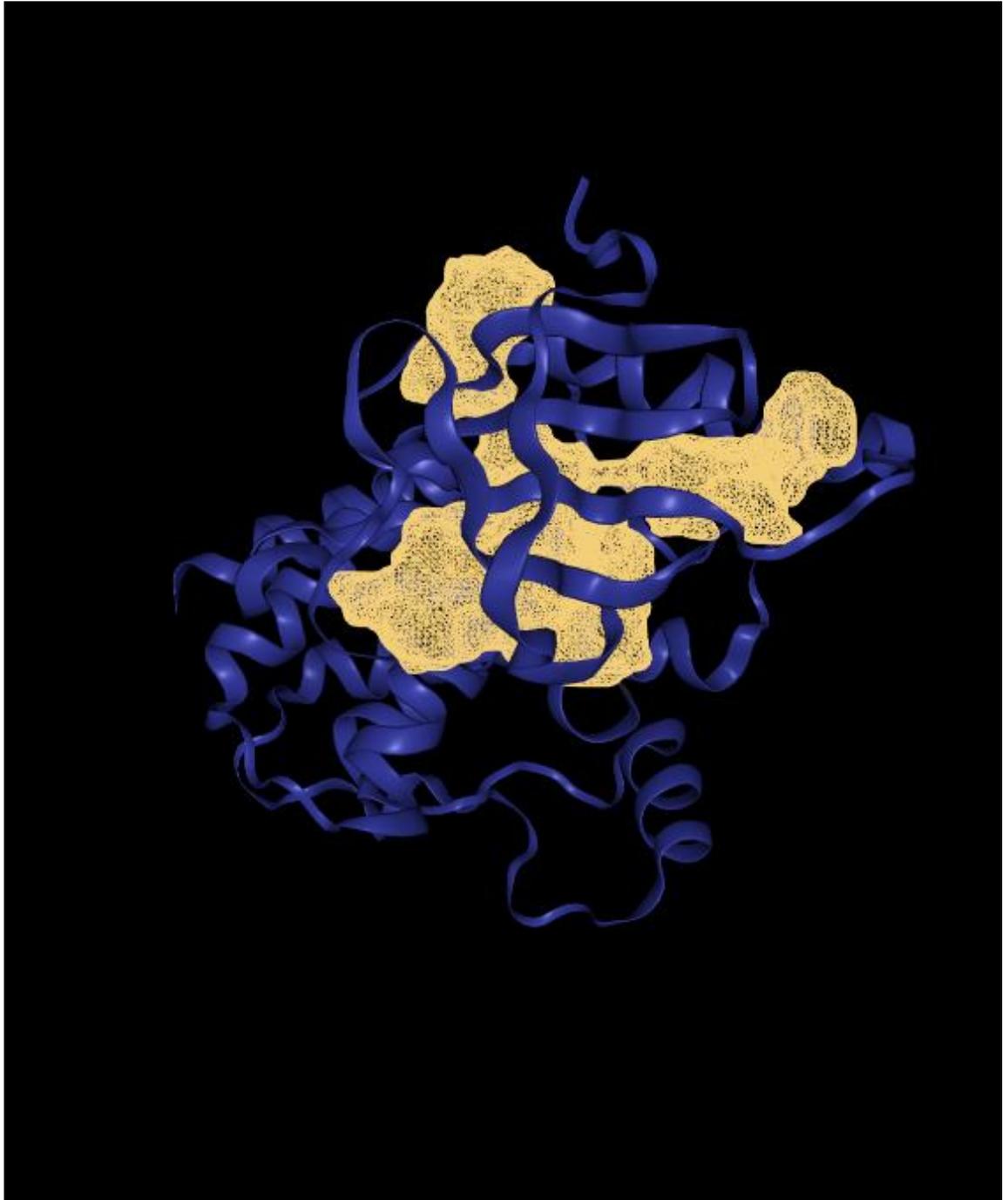


Figura 4. Pocket_0 de la probabilidad mayormente drugable de BRaf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase

3.1.5 Análisis del cribado virtual con MTiOpeenScreen

En análisis de la búsqueda de dianas terapéuticas mediante la plataforma MTiOpeenScreen se configuro con la base de la estructura tridimensional en formato PDB para el gen BRAF para ello también se seleccionó la librería de fármacos o ligandos comercial Drug-lib, adicionalmente la plataforma permite direccionar el objetivo de ataque mediante coordenadas de la GRID-BOX, afortunadamente estas se determinaron a partir de los aminoácidos residuales que mostró la pocket_0 en la evaluación previa del DogSite Scorer y una vez transpuestas en AutodockTools fue posible aislar ese sitio de ataque.

Los resultados obtenidos van más allá de los 1000 ensayos de ligandos y fármacos con docking molecular en el cribado del MTiOpeenScreen (**Lagarde et al., 2019**) & (**Labbé et al., 2015**). Por lo tanto, los primeros 100 resultados fueron analizados de manera arbitraria y reordenados de acuerdo a la energía de afinidad por la cual es posible su interacción, estas energías de afinidad van desde -13,2 hasta $-10,8 \frac{kg}{mol}$. No obstante para un análisis más riguroso se eligió las interacciones con energías que van desde -13,2 hasta $11,1 \frac{kg}{mol}$ con el fin de estimar las potenciales propiedades gracias a su estabilidad de unión y para su posterior análisis de toxicidad.

En la tabla 6 se observando los resultados de los mejores fármacos candidatos a dianas terapéuticas por su gran estabilidad energética.

Tabla 6. Fármacos con mejor energía de afinidad como posibles dianas terapéuticas para el PTC.

#	Compuesto	Zinc CODE	Energía	nRot	Código SMILES
1	Heliomycin	ZINC00010015 0837	-10,9	3	<chem>Cc1cc(O)c2c3c4c(cc(O)c13)C(C)(C)C(=O)c1c(O)cc(O)c(c1-4)C2=O</chem>
2	Taclamine	ZINC00000148 1926	-10,1	0	<chem>c1ccc2c(c1)CCc1cccc3c1[C@@H]2CN1CCCC[C@@H]31</chem>
3	Ditercalinium	ZINC00000421 5707	-9,9	9	<chem>COc1ccc2[nH]c3ccc4cc[n+](CCN5CCC(C6CCN(CC[n+]7ccc8ccc9[nH]c%10cc c(OC)cc%10c9c8</chem>
4	Bolazine	ZINC00000821 4506	-9,8	3	<chem>C[C@@H]1C[C@@]2(C)[C@@H](CC[C@H]3[C@@H]4CC[C@H](O)[C @@]4(C)CC[C@</chem>
5	R428	ZINC00005195 1669	-9,7	5	<chem>Nc1nc(Nc2ccc3c(c2)CC[C@@H](N2CCCC2)CC3)nn1-c1cc2c(nn1)- c1cccc1CCC2</chem>
6	Vinburnine	ZINC00001979 6061	-9,6	1	<chem>CC[C@]12CCCN3CCc4c(n(c5cccc45)C(=O)C1)[C@@H]32</chem>

7	Florantyrone	ZINC00000203 6732	-9,5	4	<chem>O=C(O)CCC(=O)c1ccc2c(c1)-c1cccc3cccc-2c13</chem>
8	Vismodegib / Erivegde	ZINC00004089 9447	-9,5	4	<chem>CS(=O)(=O)c1ccc(C(=O)Nc2ccc(Cl)c(-c3cccn3)c2)c(Cl)c1</chem>
9	Paranyline	ZINC00000148 2136	-9,4	3	<chem>N=C(N)c1ccc(C=C2c3ccccc3-c3ccccc32)cc1</chem>
10	Bagrosin	ZINC00002666 3185	-9,4	1	<chem>CC1(C(=O)NC(=O)N1)C2=CC3=C(C=CC4=CC=CC=C43)C=C2</chem>
11	Flutroline	ZINC00004959 0112	-9,4	7	<chem>O[C@@H](CCCN1CCc2c(c3cc(F)ccc3n2-c2ccc(F)cc2)C1)c1ccc(F)cc1</chem>
12	Nebivolol	ZINC00000421 3946	-9,3	8	<chem>O[C@@H](CNC[C@@H](O)[C@@H]1CCc2cc(F)ccc2O1)[C@@H]1CCc2cc(F)ccc2O1</chem>
13	Alfatradiol	ZINC00000383 0765	-9,3	2	<chem>C[C@]12CC[C@H]3[C@H]([C@@H]1CC[C@H]2O)CCC4=C3C=CC(=C4)O</chem>
14	Astemizole	ZINC00000060 1274	-9,3	8	<chem>COc1ccc(CCN2CCC(Nc3nc4ccccc4n3Cc3cc(F)cc3)CC2)cc1</chem>

15	Pipequaline	ZINC00000148 2144	-9,3	4	<chem>c1ccc(-c2cc(CCC3CCNCC3)c3ccccc3n2)cc1</chem>
16	Siramesine	ZINC00000153 3883	-9,3	6	<chem>Fc1ccc(-n2cc(CCCCN3CCC4(CC3)OCc3ccccc34)c3ccccc32)cc1</chem>
17	Regorafenib / Stivarga	ZINC00000674 5272	-9,3	6	<chem>CNC(=O)c1cc(Oc2ccc(NC(=O)Nc3ccc(Cl)c(C(F)(F)F)c3)c(F)c2)ccn1</chem>

3.1.6 Análisis de la toxicidad de las moléculas

El análisis del paquete QSAR-VEGA in Silico se realizó mediante la agrupación de los ligandos con mejores puntajes, entre estos se obtuvo 6 grupos y se corrió el programa con parámetros de interés a evaluar como: Mutagenicidad, Desempeño toxico, Carcinogenicidad, Intoxicación aguda, Sensibilidad de piel, Aberración cromosómica, Ensayo in vitro, Efectos en receptores estrógeno, andrógeno y tiroideo, Disrupción endocrina, NOAEL y LOAEL (máximo y mínimo nivel de dosis antes de efectos adversos), Clasificación de Cramer y Hepatotoxicidad (**Benfenati, 2013**).

Tabla 7. Interpretaciones de datos

Elemento	Interpretación
	Seguro
	Intermedio
	Peligroso
	Muy peligroso
	Sin predicción
*	Poco confiable
**	Medianamente confiable
***	Muy confiable

Tabla 8. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -13,2 a -11,6 kcal/mol Grupo 1

Parámetro	Fármacos (de -13,2 a -11,6)kcal/mol (Grupo 1)											
	Taclamine		Cep-11981		R428		Liafensine		Siramesine		R428	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity		*		**		*		**		*		*
Devel. Toxicity		**		*		*		**		*		*
Carcinogenicity		*		*		*		*		**		*
Acute Toxicity		***										
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*
Chrom. aberration		**		*		*		*		*		*
In vitro M.		*		*		*		*		*		*
E R-m effect		***		***		*		***		**		*
A R-m effect		**		**		*		**		*		*
Thyroid R A effect		***		***		*		***		***		*
E D activity												
NOAEL		*		*		*		*		*		*
Liver LOAEL		*		*		*		*		*		*
Cramer classif												
Hepatotoxicity		**		***		*		*				*

Parámetro	Fármacos (de -13,2 a -11,6)kcal/mol (Grupo 1)									
	Taclamine		Ag-13958		Entrectinib		Solcitinib		Bifeprunox	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity		*		*		**		*		**
Devel. Toxicity		**		*		*		*		***
Carcinogenicity		*		***		*		*		***
Acute Toxicity		***								***
Skin Sensitization		*		*		*		*		*
Chrom. aberration		**		*		*		*		**
In vitro M.		*		*		*		*		**
E R-m effect		***		***		***		***		***
A R-m effect		**		**		**		*		*
Thyroid R A effect		***		***		***		***		***
E D activity										
NOAEL		*		*		*		*		*
Liver LOAEL		*		*		*		*		**
Cramer classif										
Hepatotoxicity		**		***		***		*		

Tabla 9. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 2

Parámetro	Fármacos -11,5kcal/mol (Grupo 2)									
	Exatecan		Bms-833923		Seganserin		Tg-02		Mk3207	
	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad	Predicción	Fiabilidad
Mutagenicity		**		*		**		*		**
Devel. Toxicity		*		**		**		*		*
Carcinogenicity		*		***		*		*		**
Acute Toxicity		*								
Skin Sensitization		*		*		*		*		*
Chrom. aberration		*		*		*		*		*
In vitro M.		**		*		*		**		*
E R-m effect		*		***		***		***		***
A R-m effect		*		**		**		**		**
Thyroid R A effect		**		***		***		***		**
E D activity										
NOAEL		*		*		*		*		*
Liver LOAEL		*		*		*		*		*
Cramer classif										
Hepatotoxicity		*				**				***

Tabla 10. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 3

Parámetro	Fármacos -11,4kcal/mol Grupo 3															
	Ritanserín		Adapalene		Afacifenacín		Ar-12		Irinotecan		Uk432097		Lxr-623		Sumarotene	
	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F
Mutagenicity		*		**		*		*		**		**		**		**
Devel. Toxicity		*		***		*		*		*		*		*		*
Carcinogenicity		*		*		*		*		*		*		**		**
Acute Toxicity				***		***			*	*						
Skin Sensitization		*		*		*		*	*	*		*	*	*		*
Chrom. aberration		*		***		*		*	*	*		*	*	*		*
In vitro M.		*		***		*		*	*	**		*	*	*		*
E R-m effect		**		***		*		***	*	*		***	*	**	*	**
A R-m effect		**		*		*		***	*	*		**	*	**		*
Thyroid R A effect		***		***		***		***	**	*		***	**	*		***
E D activity																
NOAEL		*		*		*			*	*		*	*	*		*
Liver LOAEL		*		**		*		*	*	*		*	*	*		*
Cramer classif																
Hepatotoxicity				***		*		*	*	*		**	*	**		*

Tabla 11. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 4

Parámetro	Farmacos de -11,3kcal/mol (Grupo 4)																					
	Cep-5214		Clopimozide		Lumacaftor		Bolazine		Paranyline		Tg-02		Floxacrine		Uk432097		Floxacrine		Antrafenine		Etoposide	
	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F
Mutagenicity	Yellow	**	Red	**	Green	*	Red	*	Red	**	Yellow	*	Green	*	Green	**	Green	*	Green	**	Green	*
Devel. Toxicity	Green	*	Red	**	Green	*	Red	*	Red	*	Red	*	Red	*	Red	*	Red	*	Red	**	Red	*
Carcinogenicity	Red	**	Green	*	Green	*	Green	**	Green	**	Green	*	Green	**	Green	*	Green	**	Green	**	Red	**
Acute Toxicity	Grey		Green	**	Grey		Grey		Green	**	Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Green	**
Skin Sensitization	Green	*	Red	*	Green	*	Green	*	Red	*	Red	*	Green	*	Green	*	Green	*	Green	*	Green	*
Chrom. aberration	Green	*	Green	*	Green	*	Green	**	Red	*	Green	*	Green	*	Green	*	Green	*	Green	*	Green	**
In vitro M.	Red	*	Red	**	Red	*	Green	*	Red	*	Red	**	Green	*	Red	*	Green	*	Red	*	Red	**
E R-m effect	Green	***	Green	***	Yellow	*	Grey	*	Red	**	Green	***	Green	**	Green	***	Green	**	Green	***	Yellow	***
A R-m effect	Green	**	Green	**	Green	*	Red	**	Red	*	Green	**	Green	**	Green	**	Green	**	Green	**	Green	**
Thyroid R A effect	Green	*	Green	***	Green	*	Green	***	Green	***	Green	***	Green	*	Green	***	Green	*	Green	***	Green	***
E D activity	Green		Green		Green		Green		Green		Green		Green		Green		Green		Green		Green	
NOAEL	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*
Liver LOAEL	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*	Grey	*
Cramer classif	Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey		Grey	
Hepatotoxicity	Grey		Red	*	Red	*	Green	**	Grey		Grey		Red	*	Red	**	Red	*	Red	***	Green	**

Tabla 12. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 5

Parámetro	Fármacos de -11,2kcal/mol (Grupo 5)																			
	Teniposide		Dofequidar		Tak-901		Olaparib		Garenoxacin		Heliomycin		Flezelastine		Bagrosin		Nolpitantium		Pf-00477736	
	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F
Mutagenicity	*	**		**		**		**	*		**		**	*		*		*	**	*
Devel. Toxicity		*		**		*		*		*		*		*		*		*		*
Carcinogenicity		**		*		*		*		*		**		***		*		*		***
Acute Toxicity		**		***					***				**		**					
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Chrom. aberration		*		*		*		*		*		***		*		*		**		*
In vitro M.		*		*		*		*		*		***		*		*		*		*
E R-m effect		*		**		***		***		**		*		***		***		***		***
A R-m effect		*		**		**		**		*		*		**		***		**		*
Thyroid R A effect		***		***		***		***		***		***		***		***		***		**
E D activity																				
NOAEL		*		*		*		*		*		*		*		*		*		*
Liver LOAEL		*		*		*		**		*		*		**		**		*		*
Cramer classif																				
Hepatotoxicity		*		*		***		**				*		*				**		**

Tabla 13. Análisis de toxicidad de fármacos con afinidad de -11,5 kcal/mol Grupo 6

Parámetro	Fármacos -11,1kcal/mol (Grupo 6)													
	Florantyrone		Chir-265		Bexarotene		Aleplasinin		Conivaptan		Sanguinarium		Ag-24322	
	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F
Mutagenicity		***		**		***		**		**		***		*
Devel. Toxicity		***		*		**		*		***		*		*
Carcinogenicity		*		*		**		*		*		***		*
Acute Toxicity		***				**		**			*	**		
Skin Sensitization		*		*		*		*		*		*		*
Chrom. aberration		**		*		***		**		*		**		*
In vitro M.		*		*		*		*		*		*		*
E R-m effect		**		**		***		**		***		***		*
A R-m effect		*		*		*		*		*		**		*
Thyroid R A effect		***		***		***		*		***		***		*
E D activity														
NOAEL		*		*		*		*		*		*		*
Liver LOAEL		*		*		*		*		*		*		*
Cramer classif														
Hepatotoxicity				***						***		*		*

Claramente los resultados muestran a todos los fármacos analizados con potencial mayormente tóxico, la predicción dice que aunque no se cuenten con datos experimentales es muy posible que estas moléculas ataquen a otros órganos o interrumpan otro tipo de funciones moleculares que desembocaran en complicaciones, sin embargo es lo que hoy en día se suele considerar para algunas enfermedades como una realidad, puesto que para varios tipos de cánceres los medicamentos severos suelen destruir tejidos ajenos al objetivo, no obstante se ha seleccionado como potenciales dianas terapéuticas para el cáncer papilar de tiroides a un número selecto de los que menos riesgos se cree que pueden causar, esto basándose en el índice más bajo de fiabilidad para cierto daño, así mismo considerando el nivel más seguro predicho. Finalmente, las dianas propuestas para un posible tratamiento del PTC son: Entrectinib -11,6kcal/mol, Bms-833923 -11,5kcal/mol, Afacifenacin -11,4kcal/mol, Floxacrine -11,3kcal/mol, Olaparib -11,2kcal/mol, Nolpitantium -11,2kcal/mol, Aleplasinin -11,1kcal/mol. Como es de esperarse se ha descartado los fármacos con más potencial dañino a la salud, pero resalta la consideración de que ningún fármaco seleccionado tenga potencial complicación o los receptores tiroides por ser el principal objetivo de estudio en esta investigación. Sin embargo, esta propuesta de dianas terapéuticas para el PTC representa un paso más hacia estudios posteriores y ensayos tanto in vitro como in vivo que se deben realizar para confirmar experimentalmente que la administración de los fármacos sea con total seguridad y así obtener datos clínicos que permitan mejorar tanto el principio activo como la farmacodinámica en busca de mejores tratamientos para todo tipo de cáncer.

Tabla 14. Posibles dianas terapéuticas encontrados para el tratamiento del cáncer papilar de tiroides.

#	Fármaco	Estado	Aplicaciones	Aplicación
1	Entrectinib	-11,6	Aprobado	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
2	Bms-833923	-11,5	Investigación	Eritema Anular Centrífugo
3	Afacifenacin	-11,4	Ensayos	Vejiga hiperactiva
4	Floxacrine	-11,3	Investigación	Antipalúdico

5	Olaparib	-11,2	Desarrollo	Cáncer ovario
6	Nolpitantium	-11,2	Investigación	Cáncer de mama
7	Aleplasinin	-11,1	Desarrollo	Alzheimer

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se investigó gran variedad de dianas terapéuticas para el cáncer papilar de tiroides, principalmente basándose en la regulación de la vía de señalización MAPK donde el mayor responsable es el gen BRAF para intentar aislar otras rutas metabólicas como el reordenamiento cromosómico por parte de RET ya que se encuentra aguas más arriba y de las cuales las investigaciones señalan no ser un objetivo claro de investigación para el desarrollo de fármacos contra el PTC. La propuesta de genes diana de esta investigación representa una oportunidad muy grande para realizar estudios posteriores a nivel experimental en sentido de la patología, toxicidad, etc.

Se determinó que 34 posibles genes estaban involucrados en la aparición de PTC mediante MalaCards y sustentando la hipótesis en varias plataformas más de bases de datos que relacionan gen-enfermedad, sin embargo a pesar de tener bien determinado entre la comunidad científica sobre los fármacos aplicados en este tipo de cáncer no se han dilucidado aun tratamientos puntuales y eficientes para este, por lo mismo se descartó por investigación la existencia de ciertos fármacos ligados a la aplicación terapéutica en PTC. De la misma manera de descartó a los genes cuyos datos refieren de otro tipo de complicaciones que no encajan con el modelo de interacción para la aparición del cáncer papilar de tiroides como CCND2-AS1, DCTN1-AS1, GAS8-AS1, H19, HAGLROS, HOTAIR, HOTTIP, HULC, LINC-ROR, LNCNEF, LOC729966, MALAT1, MEG3, NAMA, NEAT1, PTCSC1, PTCSC2, PTCSC3, PVT1, SNHG12. No obstante independientemente de la enfermedad ala que refieren en estos momentos es de extrañarse que en un futuro estos puedan ser más estudiados a fondo y demuestren relación contundente con la enfermedad objetivo de esta investigación.

En el gen diana BRAF se observó la ruta metabólica que compromete su papel fundamental en la aparición o diferenciación del cáncer papilar de tiroides debido a que su disfunción altera el correcto desempeño en la regulación de señales que activan

diferentes estímulos celulares y que entre las principales esta la cascada MAPK provocando que otros genes reciban ordenes de producción de células de manera descontrolada causando la carcinogénesis.

La viabilidad de las estructuras cristalográficas se identificó mediante predicciones de pockets en la plataforma Protein Plus con el plugin integrado DoGSiteScorer mediante la obtención de los formatos .pdb provenientes de Protein Data Bank, todo este proceso enfocado al gen BRAF que presentó excelentes condiciones para interacción ligando-molécula.

El uso de las herramientas y plataformas bioinformáticas permitió encontrar potenciales dianas terapéuticas gracias a las interacciones moleculares, datos experimentales, cristalización de estructuras y cribado virtual y análisis de toxicidad, este último sirvió para reducir el número de candidatos solo 7 posibles dianas con la mayor efectividad en el tratamiento.

4.2 Recomendaciones

La acción del principio activo de los fármacos disponibles hoy en día para cualquier tipo de tratamiento requieren estudios y pruebas experimentales con mucho tiempo de seguimiento y más aún si son modelados matemáticos y predicciones mediante química computaciones, sin embargo no deja de ser una oportunidad el análisis complejo por computadora, por lo tanto se recomienda además de AutoDockTools utilizar diferentes softwares como GOLD, OEDocking TK o NovaDock aunque algunos no son open source tienen mejoras considerables en sus modelos de docking.

Los diferentes sistemas y algoritmos que utilizan las herramientas de modelado y docking molecular, así como también los parámetros por los que se manejan pueden representar un problema de incompatibilidad con estudios previos si se quiere comparar ensayos bioinformáticos por lo que es recomendable investigar sobre las directrices del manejo de estas herramientas en el caso de mudarse a otras plataformas y softwares con el fin de precisar de mejor manera la búsqueda de dianas objetivos.

MTiOpeenScreen utiliza la interacción molecular para predecir de manera tridimensional como se podría dar la unión de ligando y proteína lo cual es de gran

ayuda sin embargo se recomienda la obtención de los modelos cristalizados de los fármacos arrojados por el MTiOpeenScreen para hacer el docking molecular y comparar tanto las fuerzas de unión así como las posiciones de ligación, en varias investigaciones se sugiere que al menos se deberían hacer 1000 interacciones, esto debido a que los resultados muy pocas veces se repiten a no ser que se introduzca el mismo algoritmo, lo cual sesgaría a un solo resultado y eso no es lo que se busca.

Las cadenas moleculares en las estructuras cristalizadas ya sean provenientes del PBD o de otras plataformas muchas veces contienen residuos y fragmentos de moléculas no deseadas, ligando o incluso algunas de estas son susceptibles de grandes cambios al trabajan como monómeros o dímeros, por lo tanto se sugiere el análisis bioinformático de tantas maneras sea posible y siempre tomando en consideración la limpieza y preparación del modelo para eliminar cualquier tipo de impureza que pueda interferir en la búsqueda de dianas terapéuticas mediante química computacional.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alogheli, H., Olanders, G., Schaal, W., Brandt, P., & Karlén, A. (2017). Docking of Macrocycles: Comparing Rigid and Flexible Docking in Glide. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(2), 190–202. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00443>
- Andreev-Drakhlin, A., Cabanillas, M., Amini, B., & Subbiah, V. (2020). Systemic and CNS Activity of Selective RET Inhibition With Selpercatinib (LOXO-292) in a Patient With RET-Mutant Medullary Thyroid Cancer With Extensive CNS Metastases. *JCO Precision Oncology*, 4, 1302–1306. <https://doi.org/10.1200/PO.20.00096>
- Bastos, A. U., de Jesus, A. C., & Cerutti, J. M. (2018). ETV6-NTRK3 and STRN-ALK kinase fusions are recurrent events in papillary thyroid cancer of adult population. *European Journal of Endocrinology*, 178(1), 83–91. <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0499>
- Benfenati, E. (2013). VEGA-QSAR: AI inside a platform. *CEUR Workshop Proceedings*, 21–28. https://www.researchgate.net/publication/287320856_VEGA-QSAR_AI_inside_a_platform_for_predictive_toxicology/citation/download
- Borrelli, N., Panebianco, F., Condello, V., Barletta, J. A., Kaya, C., Yip, L., Nikiforova, M. N., & Nikiforov, Y. E. (2019). Characterization of Activating Mutations of the MEK1 Gene in Papillary Thyroid Carcinomas. *Thyroid*, 29(9), 1279–1285. <https://doi.org/10.1089/thy.2019.0065>
- Charoentong, P., Angelova, M., Efremova, M., Gallasch, R., Hackl, H., Galon, J., & Trajanoski, Z. (2012). Bioinformatics for cancer immunology and immunotherapy. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 61(11), 1885–1903. <https://doi.org/10.1007/s00262-012-1354-x>
- Ciampi, R., & Nikiforov, Y. E. (2012). RET/PTC Rearrangements and BRAF Mutations in Thyroid Tumorigenesis. *Endocrinology*, 148(3), 936–941.

<https://doi.org/10.1210/en.2006-0921>

- Fang, M., Hutchinson, L., Deng, A., & Green, M. R. (2016). Common BRAF(V600E)-directed pathway mediates widespread epigenetic silencing in colorectal cancer and melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(5), 1250–1255. <https://doi.org/10.1073/pnas.1525619113>
- Goldsmith, S. J. (2017). Radioactive Iodine Therapy of Differentiated Thyroid Carcinoma: Redesigning the Paradigm. *Molecular Imaging and Radionuclide Therapy*, *26*(1(1)), 74–79. <https://doi.org/10.4274/2017.26.suppl.08>
- Gonzalez-Cao, M., Mayo de las Casas, C., Oramas, J., Berciano-Guerrero, M. A., de la Cruz, L., Cerezuela, P., Arance, A., Muñoz-Couselo, E., Espinosa, E., Puertolas, T., Diaz Beveridge, R., Ochendusko, S., Villanueva, M.-J., Basterretxea, L., Bellido, L., Rodriguez, D., Campos, B., Montagut, C., Drozdowskyj, A., ... Berrocal, A. (2021). Intermittent BRAF inhibition in advanced BRAF mutated melanoma results of a phase II randomized trial. *Nature Communications*, *12*(1), 7008. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26572-6>
- Hanauer, D., Rhodes, D., Sinha-Kumar, C., & Chinnaiyan, A. (2015). Bioinformatics Approaches in the Study of Cancer. *Current Molecular Medicine*, *7*(1), 133–141. <https://doi.org/10.2174/156652407779940431>
- Helgren, T. R., & Hagen, T. J. (2017). Demonstration of AutoDock as an Educational Tool for Drug Discovery. *Journal of Chemical Education*, *94*(3), 345–349. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.6b00555>
- Hertzman Johansson, C., & Egyhazi Brage, S. (2014). BRAF inhibitors in cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics*, *142*(2), 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.11.011>
- Jhiang, S. M., Cheng, P., Nabhan, F. A., Sipos, J. A., & Menq, C.-H. (2021). Personalized radioiodine therapy for thyroid cancer patients with known disease. *Faculty Reviews*, *10*. <https://doi.org/10.12703/r/10-36>
- Kebebew, E., Weng, J., Bauer, J., Ranvier, G., Clark, O. H., Duh, Q.-Y., Shibru, D.,

- Bastian, B., & Griffin, A. (2012). The Prevalence and Prognostic Value of BRAF Mutation in Thyroid Cancer. *Annals of Surgery*, 246(3), 466–471. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318148563d>
- Kim, H. K., Lee, J. S., Park, M. H., Cho, J. S., Yoon, J. H., Kim, S. J., & Kang Ho-Cheol. (2014). Tumorigenesis of Papillary Thyroid Cancer Is Not BRAF-Dependent in Patients with Acromegaly. *PLOS ONE*, 9(10), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110241>
- Klubo-Gwiedzinska, J., Burman, K. D., Van Nostrand, D., Mete, M., Jonklaas, J., & Wartofsky, L. (2012). Radioiodine Treatment of Metastatic Thyroid Cancer: Relative Efficacy and Side Effect Profile of Preparation by Thyroid Hormone Withdrawal Versus Recombinant Human Thyrotropin. *Thyroid*, 22(3), 310–317. <https://doi.org/10.1089/thy.2011.0235>
- Labbé, C. M., Rey, J., Lagorce, D., Vavruša, M., Becot, J., Sperandio, O., Villoutreix, B. O., Tufféry, P., & Miteva, M. A. (2015). MTiOpenScreen: a web server for structure-based virtual screening. *Nucleic Acids Research*, 43(W1), W448–W454. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv306>
- Lagarde, N., Goldwasser, E., Pencheva, T., Jereva, D., Pajeva, I., Rey, J., Tuffery, P., Villoutreix, B. O., & Miteva, M. A. (2019). A Free Web-Based Protocol to Assist Structure-Based Virtual Screening Experiments. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4648. <https://doi.org/10.3390/ijms20184648>
- Lexa, K. W., & Carlson, H. A. (2012). Protein flexibility in docking and surface mapping. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 45(3), 301–343. <https://doi.org/10.1017/S0033583512000066>
- Loo, E., Khalili, P., Beuhler, K., Siddiqi, I., & Vasef, M. A. (2018). BRAF V600E Mutation Across Multiple Tumor Types: Correlation Between DNA-based Sequencing and Mutation-specific Immunohistochemistry. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 26(10), 709–713. <https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000516>
- Luebker, S. A., & Koepsell, S. A. (2019). Diverse Mechanisms of BRAF Inhibitor

- Resistance in Melanoma Identified in Clinical and Preclinical Studies. *Frontiers in Oncology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00268>
- Madhavi Sastry, G., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R., & Sherman, W. (2013). Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 27(3), 221–234. <https://doi.org/10.1007/s10822-013-9644-8>
- McFadden, D. G., Vernon, A., Santiago, P. M., Martinez-McFaline, R., Bhutkar, A., Crowley, D. M., McMahon, M., Sadow, P. M., & Jacks, T. (2014). p53 constrains progression to anaplastic thyroid carcinoma in a Braf -mutant mouse model of papillary thyroid cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(16). <https://doi.org/10.1073/pnas.1404357111>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
- Park, K. S., Saindane, M., Yang, E. Y., Jin, T., Rallabandi, H. R., Heil, A., Nam, S. E., Yoo, Y. B., Yang, J.-H., Kim, J. Bin, Park, S.-Y., Park, W. S., & Youn, Y.-K. (2021). Selective inhibition of V600E-mutant BRAF gene induces apoptosis in thyroid carcinoma cell lines. *Annals of Surgical Treatment and Research*, 100(3), 127. <https://doi.org/10.4174/ast.2021.100.3.127>
- Prescott, J. D., & Zeiger, M. A. (2015). The RET oncogene in papillary thyroid carcinoma. *Cancer*, 121(13), 2137–2146. <https://doi.org/10.1002/cncr.29044>
- Ramia de Cap, M. (2021). Multifocal Papillary Thyroid Carcinoma. *American Journal of Clinical Pathology*, 155(6), 913–913. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqab005>
- Sabe, V. T., Ntombela, T., Jhamba, L. A., Maguire, G. E. M., Govender, T., Naicker,

- T., & Kruger, H. G. (2021). Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224, 113705. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113705>
- Samadi, A. K., Mukerji, R., Shah, A., Timmermann, B. N., & Cohen, M. S. (2010). A novel RET inhibitor with potent efficacy against medullary thyroid cancer in vivo. *Surgery*, 148(6), 1228–1236. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2010.09.026>
- Santoro, M., Melillo, R. M., & Fusco, A. (2006). RET/PTC activation in papillary thyroid carcinoma: European Journal of Endocrinology Prize Lecture. *European Journal of Endocrinology*, 155(5), 645–653. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02289>
- Seethala, R. R., Chiosea, S. I., Liu, C. Z., Nikiforova, M., & Nikiforov, Y. E. (2017). Clinical and Morphologic Features of ETV6-NTRK3 Translocated Papillary Thyroid Carcinoma in an Adult Population Without Radiation Exposure. *American Journal of Surgical Pathology*, 41(4), 446–457. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000814>
- Volkamer, A., Kuhn, D., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). DoGSiteScorer: a web server for automatic binding site prediction, analysis and druggability assessment. *Bioinformatics*, 28(15), 2074–2075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts310>
- Wang, G., Wang, X., Zhu, J., Guo, B., Yang, Z., Xu, Z., Li, B., Wang, H., Meng, L., Zhu, W., & Ding, J. (2017). Docking-based structural splicing and reassembly strategy to develop novel deazapurine derivatives as potent B-RafV600E inhibitors. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(7), 1059–1068. <https://doi.org/10.1038/aps.2016.173>
- Wirth, L. J., Sherman, E., Robinson, B., Solomon, B., Kang, H., Lorch, J., Worden, F., Brose, M., Patel, J., Leboulleux, S., Godbert, Y., Barlesi, F., Morris, J. C., Owonikoko, T. K., Tan, D. S. W., Gautschi, O., Weiss, J., de la Fouchardière, C., Burkard, M. E., ... Cabanillas, M. E. (2020). Efficacy of Selpercatinib in RET - Altered Thyroid Cancers. *New England Journal of Medicine*, 383(9), 825–835.

<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2005651>

- Wu, D., Rice, C. M., & Wang, X. (2012). Cancer bioinformatics: A new approach to systems clinical medicine. *BMC Bioinformatics*, *13*(1), 71. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-71>
- Xing, M. (2015). BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocrine Related Cancer*, *12*(2), 245–262. <https://doi.org/10.1677/erc.1.0978>
- Yaeger, R., & Corcoran, R. B. (2019). Targeting Alterations in the RAF–MEK Pathway. *Cancer Discovery*, *9*(3), 329–341. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-18-1321>
- Yang, J. Y., Yang, M. Q., Zhu, M. (Michelle), Arabnia, H. R., & Deng, Y. (2012). Promoting synergistic research and education in genomics and bioinformatics. *BMC Genomics*, *9*(Suppl 1), I1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-S1-I1>
- Yu, W., & MacKerell, A. D. (2017). *Computer-Aided Drug Design Methods* (pp. 85–106). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6634-9_5

ANEXOS

Genes/enhancers related to **Thyroid Cancer, Nonmedullary 1** (7 elite genes): [\(open in 3D view\)](#)

* - Elite gene - Cancer - Census gene in COSMIC

#	Symbol	Description	Category	Score	Evidence	PubMed IDs
1	NKX2-1 * Ⓢ	NK2 Homeobox 1	Protein Coding	1358.91	Molecular basis known ⁶⁸ Pathogenic ⁵ Causative variation ⁷² Genetic Tests ²⁴ Susceptibility factor ⁶⁸ Novoseek inferred ⁵³	19176457 17285841 16628413 ncicb
2	BRAF * Ⓢ	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase	Protein Coding	421.89	Pathogenic ⁵ Novoseek inferred ⁵³	12960123 12068308 12447372 ncicb
3	MIR221 *	MicroRNA 221	RNA Gene	400	Causal ⁴⁶ Unspecified ⁴⁶	16365291 18587330
4	MIR222 *	MicroRNA 222	RNA Gene	400	Causal ⁴⁶ Unspecified ⁴⁶	16365291 19851034 18587330
5	SFTA3 *	Surfactant Associated 3	RNA Gene	400	Pathogenic ⁵	19176457
6	TP53 * Ⓢ	Tumor Protein P53	Protein Coding	400	Pathogenic ⁵	
7	MIR146A *	MicroRNA 146a	RNA Gene	350	Causal ⁴⁶	18474871 16365291
8	APELA	Apelin Receptor Early Endogenous Ligand	Protein Coding	150	Experimental evidence: Regulation ³⁷	27347178
9	BANCR	BRAF-Activated Non-Protein Coding RNA	RNA Gene	150	Experimental evidence: Expression ³⁷	25289082 26323687 27462868 ncicb
10	CCND2-AS1	CCND2 Antisense RNA 1	RNA Gene	150	Experimental evidence: Expression ³⁷	29366479
11	DCTN1-AS1	DCTN1 Antisense RNA 1	RNA Gene	150	Experimental evidence: Regulation ³⁷	27347178
12	GAS8-AS1	GAS8 Antisense RNA 1	RNA Gene	150	Experimental evidence: Expression ³⁷	26941397
13	H19	H19 Imprinted Maternally Expressed Transcript	RNA Gene	150	Experimental evidence: Regulation ³⁷	29287713
14	HAGLR06	HAGLR Opposite Strand LincRNA	RNA Gene	150	Experimental evidence: Regulation ³⁷	26824456
15	HOTAIR	HOXA Transcript Antisense RNA	RNA Gene	150	Experimental evidence: Expression ³⁷	25927963 27549736 29280051
16	HOITIP	HOXA Distal Transcript Antisense RNA	RNA Gene	150	Experimental evidence: Regulation ³⁷	29474928

We use cookies to ensure that we give you the best experience on our website. To learn more, please see our [Privacy Policy](#)

Anexo 1. Búsqueda en MalaCards para PTC con genes elite

#188550
Table of Contents

Title
Phenotype-Gene Relationships
Clinical Synopsis
Phenotypic Series
Text

Alternative titles: symbols
PAPILLARY CARCINOMA OF THYROID; PACT; PTC; TPC; FAMILIAL NONMEDULLARY THYROID CANCER; PAPILLARY NONMEDULLARY THYROID CARCINOMA; PAPILLARY

Phenotype-Gene Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
14q13.3	(Thyroid cancer, nonmedullary, 1)	188550	AD	3	NKX2-1	600635

TEXT
A number sign (#) is used with this entry because of evidence that susceptibility to nonmedullary thyroid cancer-1 (NMTC1) is conferred by heterozygous mutation in the thyroid transcription factor-1 gene (TTTF1), also known as NK2 homeobox-1 (NKX2-1; 600635), on chromosome 14q13.

Description
Nonmedullary thyroid cancer (NMTC) comprises thyroid cancers of follicular cell origin and accounts for more than 95% of all thyroid cancer cases. The remaining cancers originate from parafollicular cells (medullary thyroid cancer, MTC; 155240). NMTC is classified into 4 groups: papillary, follicular (188470), Hurthle cell (607464), and anaplastic. Approximately 5% of NMTC is hereditary, occurring as a component of a familial cancer syndrome (e.g., familial adenomatous polyposis, 175100; Carney complex, 160980) or as a primary feature (familial NMTC or FNMTC).

External Links
Protein
Clinical Resources
Clinical Trials
EuroGentest
MedlinePlus Genetics
CTIS
CARD
Orphanet
Animal Models

Anexo 2. Investigaciones relacionadas al PTC por genes elites previos

Harmonizome All Q SEARCH DOWNLOAD VISUALIZE PREDICT API MOBILE ABOUT

PTCPRN Gene

Name Papillary thyroid carcinoma with papillary renal neoplasia

Synonyms PRN1

NCBI Gene ID 79052

API

Download Associations

Predicted Functions

Co-expressed Genes

Expression in Tissues and Cell Lines

Functional Associations

PTCPRN has 2 functional associations with biological entities spanning 1 categories (disease, phenotype or trait) extracted from 2 datasets.

Click the + buttons to view associations for PTCPRN from the datasets below.

*If available, associations are ranked by **standardized value***

Dataset	Summary
CTD Gene-Disease Associations	Diseases associated with PTCPRN gene/protein from the curated CTD Gene-Disease Associations dataset.
OMIM Gene-Disease Associations	Phenotypes associated with PTCPRN gene from the curated OMIM Gene-Disease Associations dataset.

Anexo 3. Análisis de genes en Harmonizome.

Session: New Session

File Edit View Select Layout Apps Tools Help

Enter search term...

Network +119 MIR.222.HOTTIP.M 1 of 1 Network selected

H. sapiens (1) 1

H. sapiens (1) 25 167

Annotation

Layout Tools

GeneMANIA Homo sapiens (human)

Q-Value	Coverage	GO Annot...
0,0060	3/15	organelle in...
0,0060	3/15	Golgi inheren...
0,0060	6/223	activation ...
0,0065	3/18	positive re...
0,0065	3/18	early endo...
0,0075	3/21	regulation ...
0,0075	3/21	regulation ...
0,011	3/25	regulation ...
0,014	3/28	positive re...
0,015	5/213	neuron pro...
0,030	3/39	Golgi organ...
0,030	3/40	regulation ...
0,030	3/40	vesicle-me...
0,030	3/41	production ...
0,032	4/130	peptidyl-se...
0,043	4/149	positive re...
0,043	3/51	dsRNA pro...
0,043	3/51	production ...
0,043	5/300	axonogenesis

Node Table $f(x)$

shared name	name	gene name	query term	log score	score	annotations	annotation
H_sapiens_1_782887	H_sap...	BRAF	BRAF	-0.117925282958...	0.8887624558...	[GO:0032147, GO:0...	[activation of protein kinase activity, peptidyl-serine phosphorylation]

Command Line

Node Table Edge Table Network Table

Anexo 4. Red de interacción biológica para PTC, gen BRAF como actor principal

DRUGBANK Online Browse COVID-19 Search Interaction Checker Downloads Solutions About

Are you behind in drug discovery because you aren't using AI to its fullest potential? [Read Blog!](#)

Protein: Serine/threonine-protein kinase B-raf **P15056** [Details](#)

DRUG RELATIONS

Drug Relations Show 10 entries Search

DRUGBANK ID	NAME	DRUG GROUP	PHARMACOLOGICAL ACTION?	ACTIONS	DETAILS
DB00398	Sorafenib	approved, investigational	yes	inhibitor	Details
DB05190	XL281	investigational	unknown		Details
DB05984	RAF-265	investigational	unknown		Details
DB06999	PLX-4720	experimental	unknown		Details
DB07000	N-[2,4-difluoro-3-[(5-pyridin-3-yl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)carbonyl]phenyl]ethanesulfonamide	experimental	unknown		Details
DB08553	(1E)-5-(1-piperidin-4-yl-3-pyridin-4-yl-1H-pyrazol-4-yl)-2,3-dihydro-1H-inden-1-one oxime	experimental	unknown		Details
DB08881	Vemurafenib	approved	yes	inhibitor	Details
DB08896	Regorafenib	approved	yes	inhibitor	Details
DB08912	Dabrafenib	approved, investigational	yes	inhibitor	Details
DB12010	Fostamatinib	approved, investigational	unknown	inhibitor	Details

Showing 1 to 10 of 12 entries

Anexo 5. Validación de posibles fármacos disponibles

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation Careers MyPDB

Biological Assembly 1

4MNF

Crystal structure of BRAF-V600E bound to GDC0879

PDB DOI: [10.2210/pdb/4MNF/pdb](https://doi.org/10.2210/pdb/4MNF/pdb)

Classification: TRANSFERASE/TRANSFERASE INHIBITOR

Organism(s): Homo sapiens

Expression System: Trichoplusia ni

Mutation(s): Yes

Deposited: 2013-09-10 Released: 2014-06-18

Deposition Author(s): Sudhamsu, J., Haling, J.R., Morales, T., Brandhuber, B., Hymowitz, S.G.

Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION

Resolution: 2.80 Å

R-Value Free: 0.275

R-Value Work: 0.211

R-Value Observed: 0.215

wwPDB Validation

Metric	Percentile Ranks	Value
Rfrec		0.288
Clashscore		7
Ramachandran outliers		0.6%
Sidechain outliers		1.5%
RSRZ outliers		1.2%

Ligand Structure Quality Assessment

Worse 0 1 Better

Ligand structure goodness of fit to experimental data

This is version 1.2 of the entry. See complete history.

Macromolecule Content

- Total Structure Weight: 75.29 kDa
- Atom Count: 4271

Anexo 6. Búsqueda y análisis de la cristalografía tridimensional del gen BRAF.

ProteinsPlus - Structure-Based Modeling Support Server

4mnf... Tool: DoGSiteScorer Start over About Cite us Help Feedback

Ligands
No Ligand! Sorry

Pockets

DoGSiteScorer
DoGSiteScorer is a grid-based method that uses a Difference of Gaussian filter to detect potential binding pockets - solely based on the 3D structure of the protein - and splits them into subpockets. Check the help pages for DoGSiteScorer and its REST API and the video tutorial for further information.

Result
Click on the plus to see your selected parameters:

Show 23 entries Search:

	Name	Volume Å ³	Surface Å ²	Drug Score	Simple Score	Additional information
+	P_0	1192.96	1489.14	0.81	0.67	Click here to show/hide
+	P_1	288.9	455.06	0.73	0.13	Click here to show/hide
+	P_2	225.54	462.81	0.54	0.04	Click here to show/hide
+	P_3	202.75	441.9	0.44	0.08	Click here to show/hide
+	P_4	186.11	303.84	0.43	0.0	Click here to show/hide
+	P_5	161.6	406.03	0.27	0.07	Click here to show/hide
+	P_6	147.26	342.79	0.31	0.0	Click here to show/hide
+	P_7	115.97	359.67	0.18	0.01	Click here to show/hide

Showing 1 to 8 of 8 entries

Previous 1 Next

Representation options: Protein: Cartoon, Ligand: Licorice, Solvent: Off
Surface options: Surface: off, Color: white, Opacity: 100%
Viewer options: Background: stick, Mouse behavior: Default, Assembly: AU, View: Perspective View
More options: Screenshot: -resolution-, View: View, Interaction controls: View, 3D Viewer: Interaction controls

Anexo 7. Búsqueda de pockets con mayor posibilidad drugable.

Search [more]

Programs: Drugs, Peptides, Sequence, Structure, Test
Tutorials: Data formats, Howto, Overview, PDBInput, Policy, Registration, Stepbystep
Jobs: [overview] https://mobyli.rpbs.univ-paris-diderot.fr/data/jobs/MT
Services Help Pages: BCSearch, FAF-Drugs4, fpocket, Frog2, HHalign-Kbest, InterEVDock2, MTAutoDock/MTOpenScreen, PatchSearch, Proteo3Dnet, PCE, PEP-FOLD, PEP-FOLD3, PEP-SiteFinder, pepATTRACT, SABBAC, SAFrag, SolyPep, Yakusa

Welcome Forms Data Bookmarks Jobs Tutorials

Overview https://mobyli.rpbs.univ-paris-diderot.fr/data/jobs/MTOpenScreen/V20404522991896

get help back to form remove job download

job progress report

10%_20%_30%_40%_50%_60%_70%_80%_90%_100%
[01:33:22] ... 7 jobs already in the queue, please wait ...
10%_20%_30%_40%_50%_60%_70%_80%_90%_100%
[01:38:58] ... cleaning up
[01:39:21] 5/5 formatting output
[01:39:21] finished

results

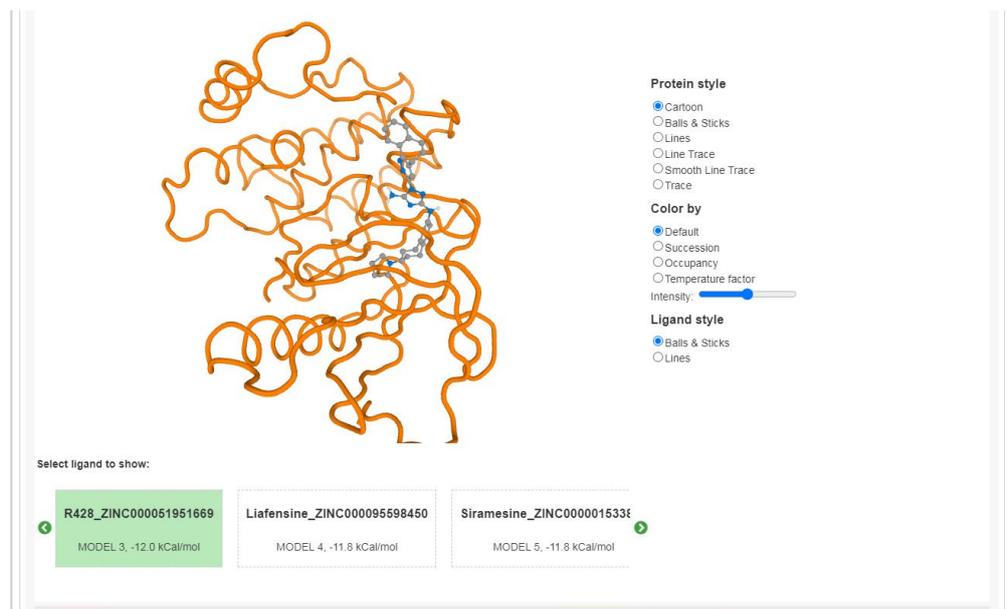
Results

Table with 1500 best ligands (HTML)

output.table.html Show 100 entries Search:

Compound	Model ID	Energy	nRot
Taclamine_ZINC000011616858	1	-13.2	0
Cep-11981_ZINC000036411318	1	-12.4	4
R428_ZINC000051951669	1	-12.0	5
Liatensine_ZINC000095598450	1	-11.8	3
Siramesine_ZINC000001533883	1	-11.8	6
R428_ZINC000051951668	1	-11.8	5
Taclamine_ZINC000001481926	1	-11.7	0
Ag-13958_ZINC000034037183	1	-11.7	6

Anexo 8. Cribado virtual con MTiOopenScreen con parámetros de BRAF y BOX-GRID.



Anexo 9. Docking Molecular por MtiOpeenScreen

Anexo 10. QSAR-VEGA in silico evaluación de toxicidad de dianas obtenidas.