

Biomarcadores de cáncer de pulmón basados en la expresión de genes, transposones y secuencias repetitivas

Tesis doctoral

Macarena Arroyo Varela

2019

Directores:

Dra. Rocío Bautista Moreno

Dr. Manuel. A. Cobo Dols

Dr. M. Gonzalo Claros Díaz

Programa de Doctorado de Biomedicina, Investigación Traslacional
y Nuevas Tecnologías en Salud
Facultad de Medicina

Universidad de Málaga

TESIS DOCTORAL

Biomarcadores de cáncer de pulmón basados en la expresión de genes, transposones y secuencias repetitivas



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

MACARENA ARROYO VARELA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

Programa de Doctorado de Biomedicina, Investigación Translacional y
Nuevas Tecnologías en Salud.
Facultad de Medicina

Málaga. Junio de 2019

1. Introducción

El cáncer es uno de los grandes males de la humanidad, y entre ellos destaca el de pulmón por tener mayor mortalidad.

Uno de los grandes avances terapéuticos es la medicina personalizada, que se basa en biomarcadores que ayudan en la filiación y elección del tratamiento. La mayoría de los biomarcadores se basan en variaciones génicas y solo recientemente se está prestando atención a la expresión diferencial de los genes codificantes que suponen solo un 2 % del genoma humano. En cambio, el 45 % del genoma está formado por las secuencias repetitivas y transposones que han sido poco estudiados como biomarcadores debido a la dificultad de su secuenciación y análisis.

2. Materiales y Métodos

Esta tesis contribuye a la búsqueda de biomarcadores usando datos generados a partir de la ultrasecuenciación del transcriptoma completo de tejido sano y tumoral de la misma persona, para que los resultados dependan solo de la enfermedad y no del individuo. Las muestras se han obtenido a partir de las secuencias albergadas en bases de datos públicas (50 pacientes de adenocarcinoma y 17 de cáncer microcítico) y a partir de la secuenciación de muestras ultracongeladas de tejido sano y tumoral de pacientes operados en el Hospital Regional Universitario de Málaga (8 pacientes de adenocarcinoma y 8 pacientes de epidermoide), de los que se han generado de media más de 60 millones de lecturas por muestra. Se han diseñado dos nuevos flujos de trabajo bioinformáticos para la búsqueda de biomarcadores en genes, secuencias repetitivas y transposones, y para analizar la colocalización de genes y transposones.

3. Resultados y Conclusiones

Entre los elementos repetitivos que se proponen como biomarcadores encontramos HERVK10D-Int sobreexpresado en adenocarcinoma y no en microcítico, y UCON88 sobreexpresado en microcítico y sin presentar expresión en adenocarcinoma, y tres (HERVL18-int, AluYg6 y LTR18B) con expresión diferencial en el mismo sentido en ambos tipos histológicos de cáncer. El haber encontrado elementos comunes en ambos tipos histológicos indica que su comportamiento transcende el cáncer concreto, por lo que podrían resultar útiles para confirmar diagnósticos.

Se han propuesto parejas de genes y transposones próximos en las que ambos elementos aparecen diferencialmente expresados en el mismo sentido: 16 parejas en adenocarcinoma, y 36 en microcítico, siendo tres parejas comunes a ambos tipos histológicos (AluY - LONRF3, L1PA3 - AC007743.1, y LTR10A - ATF7IP2). Estas parejas comunes, que además cambian de expresión en el mismo sentido en todos los pacientes y enfermedades, podrían servir para determinar qué tienen en común los distintos tipos de cáncer de pulmón y también podrían ser útiles como biomarcadores universales.

También se han propuesto tres genes con capacidad diagnóstica y pronóstica en adenocarcinoma (TMC5, CAPN8-2 y MUC1) y tres con utilidad diagnóstica en microcítico (ADYCAP1, BMX y TUBA1A). También se ha demostrado la utilidad de detectar los biomarcadores en cohortes pequeñas y verificarlos en cohortes grandes de las bases de datos.

Finalmente, pensando en la futura aplicación clínica, se proponen genes de referencia (RPL14, ATP5F1A-202, UBA52, HNRN-PA1P54 y otros) para análisis de RT-PCR o en los que no se cuente con tejido sano con el que comparar.