

Universidad del sureste

Biología molecular

Dr. José Miguel Ricaldi Culebro

Medicina Humana

Unidad I

Maria Mercedes Marroquin

Hernandez

Plan de Ayala ost. Chiapas a: 12-03-21

El transcriptoma y la genómica del cáncer

El cáncer se origina a partir alteraciones genéticas que interfieren con mecanismos esenciales para el ciclo vital de las células, como son la reparación del ADN, el control de la duplicación y la activación de la muerte celular o apoptosis. Dichas alteraciones pueden tomar forma de mutaciones en posiciones específicas del genoma, o bien la eliminación o la generación de múltiples copias de una región determinada.

Las nuevas técnicas de secuenciación han facilitado la detección de alteraciones en el genoma de múltiples tumores y han puesto de manifiesto la variabilidad genética del tumor entre diferentes individuos y dentro de cada individuo. Dichos estudios también han permitido identificar aquellas alteraciones más probablemente relevantes, llamadas *drivers*, que dirigirían las transformaciones del tumor, y diferenciarlas de mutaciones secundarias, llamadas *passengers*. Hasta ahora, la mayoría de los estudios de genómica del cáncer se han centrado en el análisis de alteraciones que afectan a regiones que codifican para proteína, las cuales están distribuidas en unos 20.000 genes, y en cómo estos cambios afectarían a la función de dichas proteínas. Sin embargo, otros procesos relacionados con la transmisión de la información genética hasta llegar a la síntesis de proteínas han sido menos explorados.

El *splicing* y la terapia en cáncer

Aunque el cáncer se origina a partir de alteraciones en el ADN, éstas tienen un impacto en el transcriptoma, el cual puede inducir y mantener diferentes mecanismos vinculados al desarrollo del cáncer. De hecho, al ser el transcriptoma el que define la capacidad funcional de una célula, se puede considerar que es el transcriptoma el que de una forma u otra da lugar al estado tumoral. A lo largo de los últimos años, múltiples trabajos científicos han relacionando las alteraciones del *splicing* alternativo con el cáncer, y recientemente se han descubierto que dichas alteraciones son también relevantes desde un punto de vista clínico, cabe pensar que el mismo cambio de *splicing* podría tener lugar debido a otros mecanismos aún por descubrir. El cambio de *splicing* en *MET*, independientemente de su origen, se

convertiría en un evento con información clínica relevante o como se suele llamar, en una *alteración accionable*.

Aunque existe un tratamiento específico dirigido a tumores con mutaciones en *BRAF*, se ha observado que un número de pacientes con dichas mutaciones *BRAF* no responden a tratamiento. Un análisis del transcriptoma de dichos pacientes ha descubierto que en pacientes resistentes a la terapia, el ARN de *BRAF* carece de varios exones. En pacientes resistentes a terapia se ha detectado que el ARN del gen diana *CDI9*, tiene un cambio de splicing que no ocurre en tumores no resistentes. En este caso, dicha alteración es debida a un cambio en la expresión de una RBP que controlaría el *splicing* de *CDI9*. Estos mecanismos de resistencia indican que alteraciones específicas en el *splicing* pueden proporcionar una ventaja selectiva a los tumores, y sugieren que algunos de estos cambios de splicing podrían incluso considerarse *drivers* del cáncer.

Tras los mecanismos de *splicing* alternativo en cáncer

Las alteraciones en el *splicing* que confieren ventaja selectiva a las células tumorales pueden ser causadas por mutaciones en las secuencias reguladoras del splicing o por alteraciones en la actividad de los factores involucrados en dicha regulación. Para los síndromes mielodisplásicos, leucemias linfoides y adenocarcinomas de pulmón se han descrito mutaciones frecuentes en varios factores de splicing (Yoshida et al. 2011, Brooks et al. 2014), pero se desconoce la relevancia de estas alteraciones en otros tipos de tumor. Los cambios en la expresión de los factores de *splicing* también pueden desencadenar procesos tumorales, y diversos factores se han definido como oncogénicos (Karni et al. 2007) o supresores (Wang et al. 2014) de tumor, dependiendo de su efecto. Tanto las mutaciones como los cambios de expresión pueden dar lugar a cambios de splicing en genes, los cuales a su vez pueden recapitular sustancialmente fenotipos asociados con el cáncer. Este es el caso del gen *NUMB*, para el que un cambio de splicing se ha relacionado con un incremento de la proliferación celular.

La mayoría de las RBPs presentan cambios de expresión en algún tipo de tumor comparado con muestras normales y muchos de estos cambios están asociados a duplicaciones de las

regiones genómicas del gen. En contraste, las RBPs están poco mutadas, y en general menos frecuentemente que las que ya se han observado anteriormente en otros tumores. Con el fin de estudiar el impacto de las alteraciones en estas RBPs en el transcriptoma, medimos los cambios de *splicing* potencialmente debidos a las mutaciones o los cambios de expresión de las RBPs. Este análisis mostró que tienen lugar muchos más cambios en el *splicing*, posiblemente debidos a los cambios de expresión. los cambios de *splicing* observados, calculamos los posibles sitios de unión al ARN de las RBPs en las regiones variables de los genes, también llamados eventos, y la posible asociación mediante la correlación de la expresión de las RBPs y el patrón de *splicing* de cada evento. Esto nos permitió reconstruir una red de regulación en la que para cada gen que cambia *splicing* en cáncer obtenemos las RBPs que lo controlarían en cada tumor. la función del gen *NUMA1* está relacionada con la formación de estructuras celulares esenciales para la separación de los cromosomas durante la división celular, en colaboración con el grupo de Miguel Angel Pujana (ICO, Barcelona) llevamos a cabo un ensayo funcional para medir el impacto del cambio de *splicing* en *NUMA1* sobre dichas estructuras.

Desafíos actuales en el estudio del *splicing* alternativo en cáncer

Aunque los resultados obtenidos son muy prometedores, el estudio del *splicing* alternativo en cáncer no está exento de múltiples dificultades. Muchos genes presentan variabilidad en sus patrones de *splicing* entre individuos (Sebestyén et al. 2015). Aunque dicha variación individual podría ser considerada neutra en lo que respecta a la relación con estados patológicos, tampoco está claro si podría estar relacionada con riesgo a enfermedad.

Una complejidad añadida consiste en la discrepancia que suelen mostrar las distintas herramientas computacionales dedicadas al estudio del *splicing* alternativo, principalmente para genes que presentan baja expresión, por lo que es difícil definir un consenso sobre cuáles son los cambios relevantes y reproducibles sólo a partir del análisis de los datos de secuenciación. Todo esto hace que la identificación de las variaciones del transcriptoma asociadas a enfermedad sean aún una cuestión por resolver. dichas técnicas son aún caras y están limitadas a moléculas abundantes y de menor tamaño, pueden servir para determinar el transcriptoma en diferentes células tumorales. Nuevas técnicas computacionales también

permiten identificar de forma efectiva las asociaciones entre las variaciones del transcriptoma y las variaciones de la secuencia genómica en regiones no codificantes por proteína, lo cual permitirá descubrir nuevos mecanismos que contribuyan al cáncer, y en especial en tumores *pan-negativos*. Por último, la caracterización de las alteraciones del *splicing* en cohortes de pacientes con seguimiento clínico ayudaría a definir de forma concluyente el valor pronóstico y terapéutico del *splicing*. Los cambios con relevancia clínica podrían usarse en el diseño de estudios de cribado, permitiendo así la incorporación del estudio del *splicing* alternativo en las estrategias actuales de genómica personalizada de cáncer.