

UNIVERSIDAD DEL
SURESTE
BIOLOGIA MOLECULAR

El papel del splicing en cáncer

KAREN YURENNI MARTÍNEZ
SÁNCHEZ

Dr. Jose Ricaldi

RESUMEN

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. 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, han permitido identificar aquellas alteraciones más probablemente relevantes, llamadas drivers, que dirigirían las transformaciones del tumor, y diferenciarlas de mutaciones secundarias, llamadas passengers. La información genética, antes de dar lugar a proteínas, genera moléculas de ARN mediante la transcripción y el splicing. El splicing es el mecanismo por el cual la información codificada en exones a lo largo del genoma, e interrumpida por los llamados intrones, elimina dichos intrones para dar lugar a las moléculas de ARN maduro. La mayoría de los genes dan lugar a múltiples moléculas de ARN mediante el proceso del splicing alternativo, pueden producir a partir de un único gen diferentes proteínas con funciones potencialmente muy diversas, o moléculas de ARN no codificantes. El conjunto de moléculas de ARN en la célula se denomina transcriptoma, y el splicing es esencial para definir y entender el transcriptoma. El splicing está controlado por múltiples complejos moleculares, compuestos principalmente por un gran número de proteínas, entre las que destacan aquellas que interactúan con los ARNs (RBPs – RNA binding proteins). Dichos complejos se unen al ARN en distintos lugares, o motivos de unión a ARN, para mediar su procesamiento. La molécula de ARN resultante es el producto de un equilibrio entre las concentraciones y las eficiencias de los diferentes complejos actuando sobre el ARN. Cambios en dichos complejos dan lugar al splicing alternativo, el cual es un mecanismo esencial en determinados procesos biológicos como la diferenciación celular.

El splicing y la terapia en cáncer. 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, cambio de splicing detectado en el gen MET en pacientes con adenocarcinoma de pulmón. Dicho cambio consiste en la omisión de exón en el ARN maduro y da lugar a la eliminación de una región de la proteína que actúa como represora de la actividad catalítica, los tumores que muestran dicha omisión del exón en MET, sin ninguna otra alteración en el gen MET, responden a las terapias dirigidas contra MET, originalmente

desarrolladas para actuar contra mutaciones que afectan a la proteína, sugiere que las alteraciones del splicing pueden ser consideradas como posibles dianas de terapia en cáncer, las alteraciones en el splicing alternativo también son esenciales para entender la resistencia a fármacos. Este es el caso de la terapia dirigida contra el gen BRAF, que aparece mutado en varios tumores, y especialmente en melanoma. Un análisis del transcriptoma de dichos pacientes ha descubierto que en pacientes resistentes a la terapia, el ARN de BRAF carece de varios exones. Aunque estos exones no se expresan en el ARN, su secuencia genómica está aún presente en las células del tumor, por lo que se trata de un caso de splicing alternativo, que además ha sido asociado a mutaciones en un intrón del gen BRAF, cuando se revierte el patrón de splicing con moléculas moduladoras del splicing, las células tumorales recuperan su sensibilidad a la terapia.

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. Los cambios en la expresión de los factores de splicing también pueden desencadenar procesos tumorales, y diversos factores se han definido como oncogénicos o supresores, 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, los cambios del splicing que caracterizan y contribuyen a la fisiopatología del cáncer vienen determinados por las alteraciones de una red compleja de proteínas de unión a ARN. Esta red de regulación está aún por determinar y muchos de los cambios de splicing con relevancia funcional en cáncer están por describir. 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. Para determinar el impacto funcional asociado al cambio de splicing de NUMA1, diseñamos oligonucleótidos antisentido (AONs)

que se unen a la secuencia del exón variable del gen NUMA1 y bloquean su reconocimiento por la maquinaria de splicing. Con estos AONs logramos por tanto inducir en células normales la forma de splicing observada en tumores. Células con este cambio inducido presentaron un incremento en la capacidad proliferativa, indicando que sólo el cambio de splicing puede cambiar las propiedades celulares, el cambio de splicing de NUMA1 representa un nuevo caso de alteración del transcriptoma que contribuye a la transformación oncogénica y que sin embargo no son visibles a muchos de los análisis que se llevan a cabo actualmente con datos genómicos de cáncer. Nuestro análisis también describe un nuevo rol en cáncer para muchas RBPs, y en particular para MBNL1, y nos permite aventurar que puede haber muchas más alteraciones relevantes en cáncer por descubrir y que están relacionadas con el splicing.

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, muchas de las alteraciones del splicing detectadas en tumores no son de gran magnitud, y aquellas para las que se ha mostrado su relevancia, no tienen lugar en un gran número de pacientes, tal y como ocurre con las alteraciones genéticas. 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. A pesar de estas dificultades, existen nuevas tecnologías capaces de secuenciar moléculas de ARN completas, 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.