



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: METABONÓMICA EN LA
INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA**

Autor: Gemma Notario Peña

Fecha: 17 de Febrero 2020

Tutor: Ignacio Rodríguez Ramírez de Arellano

ÍNDICE:

- 1. Resumen**
- 2. Introducción**
- 3. Objetivos**
- 4. Metodología**
- 5. Discusión y Resultados**
- 6. Conclusiones**
- 7. Bibliografía**

1. RESUMEN

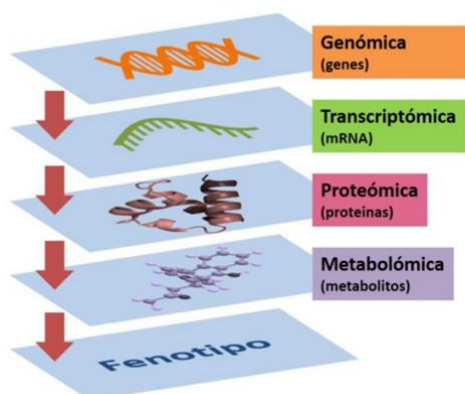
El presente trabajo se basa en revisiones bibliográficas cuyo fin es ilustrar las ventajas de la metabonomía en la investigación farmacéutica. Dado que el campo de estudio es muy amplio, nos centraremos únicamente en el cáncer. Por tanto, la finalidad principal de este estudio es la de mostrar las aplicaciones de la metabonomía tanto para la detección precoz como para el pronóstico del cáncer mediante la identificación de biomarcadores específicos, así como investigar la capacidad de predecir, mediante el estudio metabómico, una posible respuesta negativa o positiva ante un fármaco en concreto.

A tal efecto, procederemos a estudiar una muestra de los últimos trabajos realizados en el campo de la metabonomía aplicada a la investigación contra el cáncer, analizando para ello los resultados alcanzados a través de los mismos y comparándolos entre sí a fin de determinar el futuro potencial de esta rama de las ciencias ómicas.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

- Introducción

La metabonomía¹ es la ciencia que estudia la identificación, caracterización y cuantificación de los metabolitos en los sistemas biológicos. Los metabolitos son las moléculas que resultan de la actividad celular y, por consiguiente, sirven como medida directa de su actividad. Al contrario que las proteínas o los genes, que para ser activas necesitan modificaciones post-traduccionales o epigenéticas, los metabolitos son indicadores directos de la actividad bioquímica de la célula en un momento determinado. Es el siguiente salto dentro de las ciencias “ómicas”².



En la bibliografía consultada se utiliza indistintamente el término metabonómica y metabolómica, ya que, en la práctica es casi imposible distinguirlas. La diferencia principal radica en que, inicialmente, la metabolómica se enfocaba en la descripción analítica, caracterizando y cuantificando todos los metabolitos de bajo peso molecular en un sistema biológico, mientras que la metabonómica se centraba en un conocimiento más global de la respuesta metabólica de los seres vivos para mantener su homeostasis ante un estímulo fisiopatológico³.

La genómica tan sólo nos posibilita entender las enfermedades de origen genético. Sin embargo, la metabonómica nos ofrece la posibilidad de analizar el funcionamiento celular, mostrándonos los procesos bioquímicos implicados, acercándonos más al fenotipo. En resumen, los genes nos muestran “lo que podría ocurrir”, mientras que los metabolitos nos indican “lo que está ocurriendo”⁴. Esto nos permite investigar el origen de enfermedades de gran prevalencia como el cáncer, el alzhéimer o la esquizofrenia, enfermedades que siguen presentando un gran número de incógnitas a pesar de disponer de una ingente cantidad de información, tanto genética, como bioquímica y farmacológica al respecto.

En las células tumorales se produce una reprogramación metabólica conocida como efecto Warburg⁵. Las células cancerosas deben modificar sus programas metabólicos para adaptarse a los requerimientos de energía y macronutrientes que apoyen la rápida proliferación celular. Esta alteración en el metabolismo se ha estudiado en diferentes tipos de tumores con el fin de encontrar un patrón o un marcador bioquímico que nos puede servir para pronosticar o predecir el estado de la enfermedad.

Al hablar de biomarcadores es importante aclarar la diferencia entre huella metabólica y perfil metabolómico. El primero sería la medida global de los metabolitos presentes en el sistema biológico para detectar diferencias entre las muestras. En el caso del segundo sería la identificación y cuantificación de un número limitado de metabolitos predeterminados y relacionados entre sí^{3 4}.

Durante la carcinogénesis, las alteraciones somáticas en oncogenes y supresores tumorales transforman las células al inducir amplios cambios en la expresión génica que posteriormente provocan una reprogramación metabólica⁶. Por lo tanto, la expresión génica representa una dimensión molecular de particular interés en el estudio del metabolismo del cáncer, ya que es un puente entre los impulsores oncogénicos y los fenotipos metabólicos. Algunos estudios pioneros han analizado datos de expresión génica a gran escala en múltiples tipos de cáncer^{7 8 9 10}. Centrándose en las comparaciones de tumor y tejido normal adyacente, esos estudios muestran una desregulación transcripcional generalizada de genes metabólicos.

En investigaciones recientes se plantea como meta encontrar biomarcadores en fluidos, los cuales son más accesibles y menos invasivos, lo que facilita que podamos obtener diagnósticos más rápidos y que en el futuro sirvan para hacer un screening poblacional, al objeto de aumentar la tasa de detección precoz de determinados tipos de cáncer²⁴.

El desarrollo de las técnicas espectroscópicas de alta resolución nos permite obtener información de todos los metabolitos encontrados en una muestra; así, al comparar los metabolitos hallados en muestras de casos (enfermos) con los hallados en controles (sanos), utilizando para ello las últimas técnicas desarrolladas en bioinformática, es posible traducir toda esta información metabólica en datos operables, al objeto de establecer con ellos biomarcadores.

En este sentido, la cantidad de información hace que sea imprescindible la utilización de programas informáticos específicos y bases de datos que interpreten la matriz generada con el análisis metabonómico. Este análisis se realiza con herramientas estadísticas multivariantes para poder obtener resultados significativos¹¹.

Los perfiles metabolómicos basados en muestras de suero y orina han sido utilizados con fines diagnósticos en una gran variedad de tumores, incluyendo vejiga, renal, hepático, colon, mama, próstata y ovario¹². En este sentido, el establecimiento de marcadores diagnósticos a través de muestras de suero y orina presenta grandes ventajas con respecto a los establecidos a través de muestras de tejido, ya que la gran diferencia entre el tejido tumoral y el tejido normal hace que los datos obtenidos en el análisis metabolómico no tengan una relevancia clínica tan significativa como cabría esperar en un primer momento¹³.

La metabolómica del cáncer muestra niveles elevados de fosfolípidos (caracterizados por una elevación en los componentes que contienen colina y fosfocolina), incremento de la capacidad glicolítica, incremento de la función glutaminolítica y sobreexpresión de isoenzimas de la glucólisis, como la piruvato-quinasa tipo 2¹⁴. Igualmente, se han efectuado estudios que establecen hasta un 83% de sensibilidad en el perfil metabólico lipídico al objeto de discernir entre pacientes con cáncer y controles, utilizando para ello RNM en muestras sanguíneas¹⁵.

En el ámbito farmacológico, se diseñó un estudio en relación a los efectos que generaba tanto entre células sensibles como entre células resistentes la exposición a un agente inhibidor de la transducción, y el perfil metabólico obtenido en ambos casos fue diferente. El "Imatinib", un inhibidor tirosin-quinasa del oncogen BCR-ABL, demostró una disminución del crecimiento celular e inducción a la apoptosis en leucemia mieloide crónica¹⁶.

Metabólicamente, dicho fármaco inhibe la síntesis de las macromoléculas requeridas por la célula para su supervivencia. En los casos de resistencia al Imatinib, se ha visto un aumento en los niveles de fosfocolina y un descenso de la oxidación de la glucosa. En este sentido, puede resultar de gran utilidad emplear los perfiles metabólicos con la finalidad de reflejar rápidamente si existe o no resistencia al tratamiento.

La heterogeneidad inherente a la propia naturaleza del cáncer, unido a la gran variabilidad existente dentro de los mismos subgrupos, propicia que el abordaje personalizado entre el tumor y el huésped sea mucho más efectivo. En el cáncer de mama, existen estudios que combinan los “*DNA microarrays*” y el estudio metabonómico por RMN, que han demostrado que dentro de un mismo subgrupo en pacientes Luminal A, había diferencias en términos de menores niveles de glucosa y mayores niveles de alanina, lo que implica que la estratificación de los subgrupos es una parte fundamental en la investigación¹⁷.

- **Análisis metabonómico**

A la hora de iniciar un estudio, el mismo se puede abordar de una manera u otra dependiendo de la información de la que previamente se dispone en relación al problema biológico que se va a tratar. En aquellos casos en los que se conozca el número y tipo de metabolitos que son de interés, es posible realizar una Aproximación Dirigida. Por el contrario, en aquellos casos en los que no se tenga información previa de los metabolitos que puedan estar implicados en el proceso biológico o bioquímico concreto, lo que procede es llevar a cabo una Aproximación No-Dirigida.

Si bien es cierto que el hecho de conocer el metabolito que es de interés ayuda a la hora de seleccionar el método de detección y eso optimiza el proceso, también es cierto que con la Aproximación No-dirigida se obtiene una mayor cantidad de información. La aproximación No-Dirigida está siendo cada vez más utilizada en el diagnóstico clínico al objeto de identificar nuevas dianas terapéuticas, así como para el desarrollo de nuevos fármacos y para la investigación de los procesos bioquímicos implicados.

Los datos principalmente se van a obtener mediante Espectroscopia por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)¹⁸ o por Espectroscopia de Masas (MS)¹⁹. Esta última tiene una mayor sensibilidad, pero tiene el inconveniente de que ha de ir acoplada con otros métodos de pre-separación, tales como la cromatografía líquida o la cromatografía gaseosa (por ello nos referiremos a ella como MS-LC o MS-GC). Otros métodos más selectivos son la Cromatografía

Líquida de Alta Resolución (HPLC) y la Cromatografía Líquida de Ultra-Alta Resolución (UPLC).

- **Espectroscopia RMN**

Es un fenómeno que se explica con la existencia de núcleos con momento dipolar magnético no nulo. No todos los núcleos de un mismo isótopo resuenan a la misma frecuencia, ya que estos núcleos están rodeados por una nube de electrones diamagnéticos, la cual genera un campo magnético opuesto al campo magnético principal. Esta diferencia dependerá de la distribución de electrones alrededor del núcleo, y por tanto de la estructura química molecular.

- **Espectroscopia MS**

Es una técnica microanalítica que puede ser usada selectivamente para determinar un analito en la muestra. Se basa en la identificación de partículas ionizadas en estado gaseoso a través de su relación masa/carga, es decir, la masa del ion dividido por el número de cargas que posee. Al utilizar los campos magnéticos obtendremos un espectro concreto de masa/carga de ese analito en concreto. La separación iónica se puede llevar a cabo por: (1) sector magnético, (2) transformada de Fourier de la resonancia de ciclotrón del ion, (3) cuadrupolo (Q) y (4) tiempo de vuelo. La más utilizada en los estudios metabonómicos es el tiempo de vuelo (TOF), aunque también es frecuente el (Q), así como la combinación de ambas.

- **Reconocimiento de Patrones**

Es lo que permite extraer información útil de la compleja matriz de datos metabólicos. Hay dos métodos: supervisado y no supervisado. En los no supervisados, se va a reducir la complejidad de los datos extraídos, de forma que podamos obtener representaciones gráficas más asequibles de interpretar.

En los métodos supervisados, un conjunto de muestras conocidas serán utilizadas para construir un modelo matemático, el cual será evaluado con un conjunto independiente de muestra. Entre los métodos no supervisados destaca el análisis de componentes principales (PCA), mientras que entre los supervisados destaca el Análisis por Vecinos Cercanos (KNN), Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA), Análisis Lineal Discriminante (LDA) o las Redes Neuronales.

Como indican BELTRÁN CARBÓ y YANES TORRADO (*Metabolómica: Nuevo Paradigma para el Estudio de Sistemas Biológicos*, Rev Graseqa, Mayo 2012): “para la identificación de metabolitos se procede de manera distinta en el caso de RMN o de LC-MS. Para RMN la identificación no es tan compleja como en el caso de LC-MS, ya que se disponen de bases de datos comerciales, así como de una amplia bibliografía con numerosas reseñas de distintos metabolitos.

Así pues, en RMN, una vez obtenidos los puntos espectrales que difieren entre controles y casos, vamos a asignar a cada espectro un metabolito. En el caso de LC-MS, la identificación no es tan directa como en RMN. Para LC-MS, una vez se conocen cuáles son las masas y los tiempos de retención que varían entre los grupos, se vuelve a analizar la muestra para producir la rotura de dicho compuesto, y obtener así su patrón de fragmentación. A continuación, se compara dicho patrón de fragmentación con patrones disponibles en algunas bases de datos, tales como HMDB, Metlin o MassBank, entre otras”.

3. OBJETIVOS

- Determinar si el análisis metabonómico es útil a la hora de encontrar biomarcadores para el diagnóstico del cáncer.
- Utilidad de los biomarcadores en el pronóstico y tratamiento del cáncer.
- Analizar la utilidad de la metabonómica en la investigación contra el cáncer.

4. METODOLOGÍA

En este sentido, se ha realizado una revisión bibliográfica de artículos de libre acceso, publicados en diversas bases de datos, tales como MEDLINE/PubMed, Dialnet, ScienceDirect y Google Scholar. Las palabras clave empleadas han sido las siguientes: *metabolic, cancer, metabolomic, metabonómica*. Como criterios de inclusión, se ha establecido la selección de publicaciones tipo estudios, revisiones, textos completos y similares, siempre con menos de 6 años de antigüedad.

Tras la revisión sistemática de los artículos se obtiene un gran número de documentos de los cuales primero se seleccionan aquellos que se adecuaron a los objetivos del trabajo, posteriormente se descartaron aquellas referencias duplicadas (en más de una base de datos) y finalmente de toda la colección de

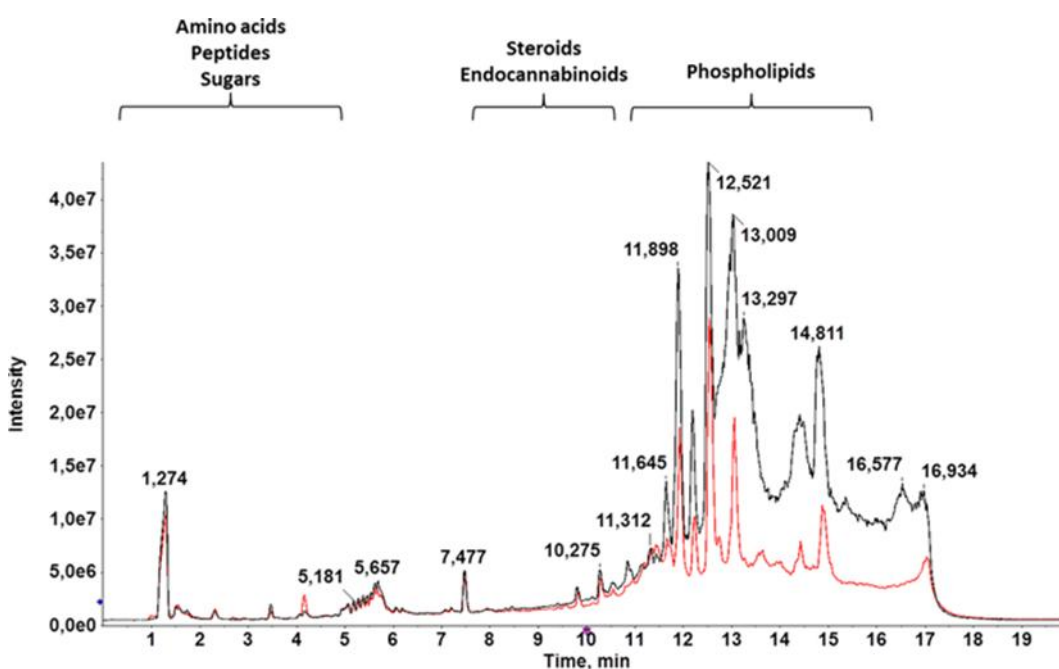
referencias obtenidas recogemos cinco para la discusión del trabajo. Se tomó esta decisión en base al contenido que mostraron, pues decidimos seleccionar dentro del cáncer los tipos con mayor prevalencia en nuestra sociedad y aquellos que recogían más información.

5. DISCURSIÓN Y RESULTADOS

En la introducción y antecedentes hemos seleccionados artículos con muchas revisiones, ya que, buscábamos definir conceptos; en cambio, a la hora de contrastar los objetivos del trabajo, lo que buscamos son los últimos artículos. De esta forma, y siguiendo los criterios metodológicos explicados anteriormente, hemos seleccionado artículos recientes que se centran en los cánceres de mayor prevalencia. Esta selección pretende representar la relevancia clínica que tiene la aplicación de esta técnica en la investigación de la enfermedad.

5.1 *Cáncer colon rectal metastásico*

En este estudio²¹ realizaron un análisis metabonómico no dirigido usando Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a Espectrometría de Masas (LC-HRMS) para identificar un patrón molecular que discriminara entre individuos con y sin cáncer de colon rectal metastásico (CCR). Para ello, dividen a la población en casos (CCR) y controles sanos (HC), y utilizan las muestra de sangre de 65 pacientes con CCR en estadio IV sin resección del tumor primario y las muestras de sangre de 60 pacientes de controles (HC). Las muestras de CCR revelaron alteraciones en las especies de lípidos; endocannabinoides, esfingolípidos y glicerofosfolípidos.



La evaluación de la fórmula molecular a partir de la masa precisa y el agrupamiento isotópico proporcionó una identificación tentativa de cada biomarcador potencial. Seguidamente analizaron los espectros de fragmentación obtenidos experimentalmente con controles encontrados en bases de datos espectrales para reconocer iones característicos, y de esta forma obtuvieron cinco biomarcadores para la detección de CCR:

m/z	RT (min)	Molecular formula	Mass error (ppm)	p value	FDR	Fold change*	VIP	AUC	Tentative identification
302.3042 ^a	10.12	C18H39NO2	0.5	4.00E-03	2.48E-02	1.81	1.01	0.61	Sphinganine
376.2571 ^a	10.89	C24H41NO2	4.2	4.00E-04	4.14E-03	10.68	2.25	0.77	Endocannabinoid
398.2424	10.90	C58H107NO22	1.2	7.00E-04	7.02E-03	6.63	1.86	0.73	Gal α 1-3(Fuc α 1-2) Gal β 1-4Glc β -Cer(d18:1/16:0)
500.2724	11.56	C23H44NO7P	0.5	9.43E-10	3.05E-07	0.49	1.12	0.61	PE(18:2(9Z,12Z)/0:0)**
522.3451 ^a	11.61	C26H52NO7P	0.6	6.00E-08	2.60E-06	0.58	1.22	0.64	PC (18:1(9Z)/0:0)**

No encontraron estándares comerciales para contrastar todos los metabolitos, por lo que centraron la investigación en los Endocannabinoides y Esfinganina. Los Endocannabinoides tienen diferentes funciones en el tracto gastrointestinal, específicamente en el colon, y se ha comprobado que inhiben la proliferación de células CCR, principalmente a través de los receptores CB1/2. En el estudio, los niveles de Endocannabinoides fueron más bajos en las muestras de CCR que en las muestras de HC control, lo que puede explicarse por la sobreexpresión en el CCR de la enzima metabolizadora de lípidos MAGL, una enzima clave en el metabolismo Endocannabinoides. En este sentido, se encontró que los modelos con reducción de MAGL disminuyó el crecimiento tumoral a través de la regulación negativa de Ciclina D1 y/o Bcl².

Esta clase de lípidos están implicados en la modulación de la vía WNT/ β -catenina, otra de las vías que se ve alterada en CCR. Bajas concentraciones de estos esfingolípidos podrían justificar una baja regulación de esta vía que podría favorecer la metástasis. La interacción entre las ceramidas y los endocannabinoides también parece ser crucial para la progresión del cáncer, dado que los cannabinoides regulan las vías metabólicas de los esfingolípidos al promover el agotamiento de la esfingomielina y aumentar notablemente las concentraciones de ceramida.

En este estudio se cumple el objetivo de nuestro trabajo, ya que detectan biomarcadores utilizando la metabolómica: además estos los obtienen en muestras de sangre, lo que podría tener una gran relevancia clínica, pues ayudaría a una detección precoz. El cáncer de colon rectal tiene una gran prevalencia en nuestra sociedad y los métodos de detección precoz actuales son menos prácticos y dificultan que la población los lleve a

cabo. La metabonómica permite a los investigadores relacionar los datos obtenidos con otras ciencias ómicas, de forma que pueden profundizar en el mecanismo que lleva a cabo la patología, aportando cada vez más información sobre la enfermedad. Los inconvenientes que hemos encontrado de este estudio son que necesita revisiones y muestras mayores para poder validar la información.

5.2 Cáncer de mama

El cáncer de mama es una de las causas de mortalidad más frecuentes en mujeres. La mamografía y la biopsia tumoral seguidas de un análisis histopatológico son los métodos actuales para diagnosticar el cáncer de mama. La mamografía no detecta todos los subtipos de tumores de mama, especialmente aquellos que surgen en mujeres más jóvenes o mujeres con tejido mamario denso. Hay varios artículos que utilizan la metabonómica para encontrar biomarcadores en muestras de suero. Esto tiene una gran relevancia clínica, dado que podrían ser usados en controles rutinarios y detectar precozmente el cáncer de estas mujeres.

En un estudio realizado por el servicio de oncología médico de un complejo hospitalario de Jaén²³, analizan muestras de suero de pacientes con cáncer de mama y de pacientes sanas aplicando la técnica analítica ESI-Q-TOF MS (Espectroscopia de Masas), de forma que obtienen treinta y cinco metabolitos diferenciales. Utilizando diferentes métodos bioinformáticos, encuentran que en las pacientes con cáncer de mama hay mayores niveles de Taurina y Ácido Linoleico, además de menores concentraciones de Caproico. Estos resultados muestran una firma metabólica específica del cáncer de mama que puede usarse para la detección de éste en muestras de suero, ya que la sensibilidad y especificidad de la prueba son altas.

En otros artículos se plantean crear dispositivos portátiles de bajo coste que analicen estos biomarcadores en sangre de forma que se detecte la enfermedad de forma precoz²⁴.

Respecto al pronóstico y sensibilidad al tratamiento, hemos encontrado artículos en el cáncer de mama triple negativo que muestran la metabonómica como herramienta en el juicio clínico. El cáncer de mama triple negativo es aquél en el que las pacientes presentan los receptores típicos del cáncer de mama: receptores de hormonas progesterona y estrógeno negativo, así como HER2 negativo. En estos cánceres triple negativo, si se alcanza una respuesta completa a la quimioterapia neoadyuvante, las pacientes presentan mejor pronóstico. Sin embargo, las pacientes refractarias o pobremente respondedoras a la quimioterapia neoadyuvante presentan una peor supervivencia. Esto hace que sea de gran relevancia la identificación temprana de estas enfermas para tratar de alterar la secuencia de tratamiento, pasando inicialmente a cirugía o valorar otras alternativas terapéuticas.

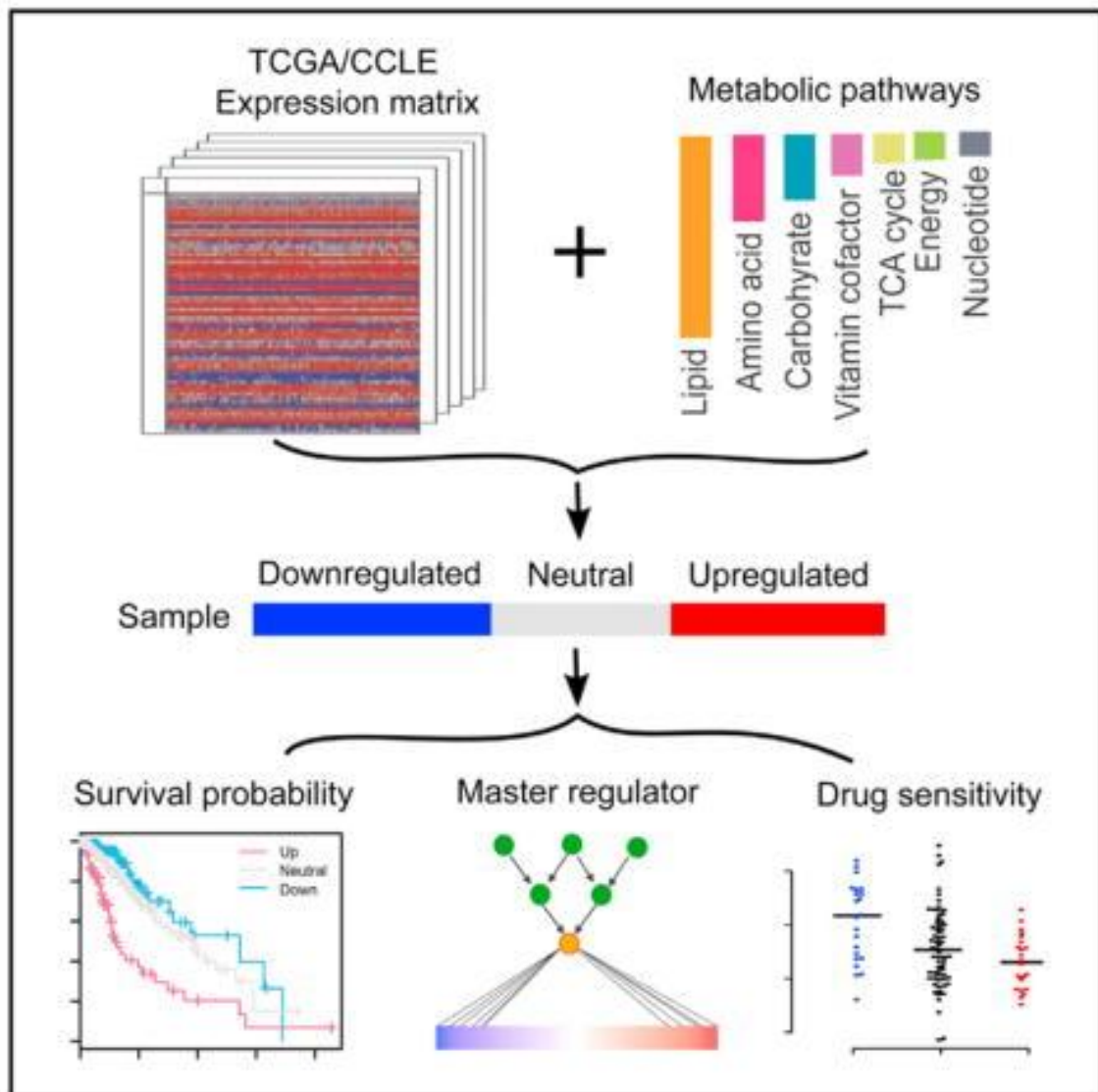
El tratamiento temprano tradicional consiste en la cirugía, tras la cual ya se inicia el tratamiento hormonal o la quimioterapia. El tratamiento neoadyuvante consiste en el tratamiento previo a la cirugía. En varios estudios revisados, analizan muestras de suero en pacientes con tratamiento neoadyuvante y tratan de identificar patrones metabólicos para ilustrar mejor la respuesta de los individuos a él. Se usaron muestras de plasma sanguíneo de pacientes con cáncer de mama tratados con quimioterapia neoadyuvante; analizaron una muestra antes del tratamiento (basal) y una muestra después de la quimioterapia (post-tratamiento), y también se recopilaron datos clínicos sobre la respuesta (respuesta completa o respuesta parcial). Los experimentos se realizaron usando cromatografía líquida junto con espectrometría de masas. Encontraron 19 metabolitos diferenciales, de los cuales, utilizando técnicas bioinformáticas, consiguieron extrapolar la información para poder predecir la respuesta ante la terapia neoadyuvante^{20, 22}.

El último estudio que vamos a analizar fue realizado en el año 2018 por un equipo compuesto, entre otros, por los investigadores Xinxin Peng, Zhoungyuan Chen, Farshad Farshidfar, et al¹³. En su estudio, el equipo utilizó datos moleculares de 9.125 muestras de pacientes del “TCGA” (The Cancer Genome Atlas). El “TCGA” es un proyecto creado para identificar el conjunto completo de cambios en el ADN en muchos tipos de cáncer diferentes.

A través de estas muestras, en las cuales se encontraban presentes treinta y tres tipos de cáncer diferentes (patrones de expresión de ARNm), se consiguieron identificar diversos subtipos de tumores basados en la alteración de siete grandes vías o procesos metabólicos. Con el fin de caracterizar la heterogeneidad metabólica dentro de los tipos de cáncer, clasificaron los subtipos de muestras tumorales en subtipos de expresión metabólica. Para poder realizar esta clasificación, desarrollaron un método computacional para subdividir los subtipos tumorales en subtipos metabólicos. Posteriormente, procedieron a evaluar estos subtipos en relación a la mortalidad o supervivencia de los pacientes, lo cual pone de manifiesto su relevancia a la hora de pronosticar la evolución del paciente.

Al llevar a cabo dicha evaluación, se encontró que los subtipos metabólicos se correlacionaban ampliamente con el resultado clínico. Así, los subtipos metabólicos con índices más elevados de carbohidratos, nucleótidos, vitaminas y cofactores se correlacionaban de manera más directa con un peor pronóstico, mientras que los subtipos metabólicos con índices más elevados de lípidos mostraron lo contrario: un mejor pronóstico. Todos los subtipos metabólicos mostraron efectos convergentes en diversos rasgos distintivos del cáncer y aparecían modulados por reguladores maestros altamente recurrentes en todos los tipos de cáncer. (Por ejemplo, demostraron que la eliminación de determinados reguladores maestros de subtipos metabólicos de carbohidratos, como el *SNAI1* o el *RUNX1*, variaban la actividad metabólica y la sensibilidad a los medicamentos).

El estudio subraya la importancia de la estratificación del paciente de una manera específica al contexto. Es por ello que proponen una estratificación de los pacientes en función de los tipos de tumor (TCGA) y los subgrupos del perfil metabólico encontrados. Dividen a los pacientes en función de la expresión de los genes metabólicos en; “Downregulated, Neutral y Upregulated” lo que hemos traducido como “Regulados al alza, neutrales y regulados a la baja”.



Tras realizar esta estratificación de los pacientes, analizan la supervivencia y sensibilidad a los fármacos de los diferentes tumores, correlacionando los resultados de los perfiles metabólicos y de los TCGA. Además, en este estudio buscan encontrar reguladores maestros de las siete grandes vías metabólicas mencionadas anteriormente, pero esta parte del estudio no se ajusta a los objetivos del trabajo, por lo que no se va a profundizar en ello.

Es de tener en cuenta que los conceptos de "Regulado al alza" o "Regulado a la baja" aquí se definen en relación a otros tumores dentro del mismo tipo de cáncer, en lugar de en relación a los tejidos normales. Como se había citado anteriormente, el análisis de estudios anteriores de muestras de tejido sano con tejido tumoral en muchas ocasiones no era de gran relevancia clínica por la diferencia entre los tejidos; la modificación de los tejidos tumorales provocaba en muchas ocasiones una difícil lectura de los metabolitos.

En lo concerniente a la sensibilidad de los medicamentos, utilizaron muestras de CCLE (Cancer Cell Line Encyclopedia) y se centraron en 181 líneas celulares de cáncer de pulmón. Utilizando métodos bioinformáticos, clasificaron éstas en 34 (Reguladas a la baja), 33 (Reguladas al alza) y 114 (Neutros), y se centraron en el subtipo de genes del metabolismo de carbohidratos. Encontraron doce fármacos que mostraron una sensibilidad significativamente diferente. Entre estos, centran el estudio en el Docetaxel (quimioterápico), los resultados muestran que el subgrupo metabólico de carbohidratos "Regulado al alza" presentaba una mayor sensibilidad al Docetaxel.

Se seleccionó este estudio a pesar de ser menos actual que los anteriores porque contiene mucha información; no sólo analiza biomarcadores, sino que utiliza éstos para poder pronosticar la evolución de la enfermedad y dirigir el tratamiento terapéutico de una forma más personalizada.

6. CONCLUSIONES

De la bibliografía consultada y seleccionada mediante la metodología, descrita podemos concluir que se cumplen los objetivos del trabajo:

- Se determina que el análisis metabonómico es útil a la hora de encontrar biomarcadores para el diagnóstico del cáncer.
- Los biomarcadores encontrados son útiles para el pronóstico y tratamiento del cáncer.
- La metabonómica tiene una gran relevancia en la investigación contra el cáncer porque integra información del resto de ciencias ómicas, de forma que se puede profundizar mucho más en los mecanismos y rutas que implica la enfermedad, abriendo así la puerta a nuevas investigaciones.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ¹Nicholson JK, Lindon JC, Holmes. *Metabonomics: Understanding the Metabolic Responses of Living Systems to Pathophysiological Stimuli via Multivariate Statistical Analysis of Biological NMR Spectros*. *Xenobiotica*. 1999; 29: 1181-1189.
- ²Cambiaghi, Alice; Ferrario, Manuela; Masseroli, Marco. *Analysis of metabolomic data: tools, current strategies and future challenges for omics data integration*. *Briefings in Bioinformatics*. 2017; 18 (3):498-510.
- ³Fiehn, Olivier. *Combining Genomics, Metabolome Analysis, and Biochemical Modelling to Understand Metabolic Networks*. *Comp. Funct. Genomics*. 2001;2:155-168.
- ⁴Fiehn, Olivier. *The Link Between Genotypes and Phenotypes*. *Plant Mol Biol*. 2002;48(1-2):155-171.
- ⁵Herrera-González NE, Martínez-García F, Mejía-Jiménez E. *El Efecto Warburg: La Mano Derecha en el Desarrollo del Cáncer*. *Rev Esp Med Quir*. 2015;20:171-177.
- ⁶Vander Heiden MG, DeBerardinis RJ. *Understanding the Intersections Between Metabolism and Cancer Biology*. *Cell*. 2017;168(4):657-669.
- ⁷Haider S, McIntyre A, van Stiphout RG. *Genomic alterations underlie a pan-cancer metabolic shift associated with tumour hypoxia*. *Genome Biol*. 2016 ;17(1):140.
- ⁸Hu J, Locasale JW, Bielas JH, O'Sullivan J. *Heterogeneity of tumor-induced gene expression changes in the human metabolic network*. *Nat Biotechnol*. 2013; 31(6):522-529.
- ⁹Nilsson R, Jain M, Madhusudhan N. *Metabolic enzyme expression highlights a key role for MTHFD2 and the mitochondrial folate pathway in cancer*. *Nat Commun*. 2014;5:3128.
- ¹⁰Reznik E, Sander C. *Extensive decoupling of metabolic genes in cancer*. *PLoS Comput Biol*. 2015; 11(5):10041.
- ¹¹Beltrán A, Yanes O. *Metabolómica: Nuevo Paradigma para el Estudio de Sistemas Biológicos*. *Inv Graseqa*. 2012;2.
- ¹²Davis VW, Bathe OF, Schiller DE. *Metabolomics and Surgical Oncology: Potential Role for Small Molecule Biomarkers*. *Journal of Surgical Oncology*. 2011;103:451-459.
- ¹³Xinxin Peng, Zhoungyuan Chen, Farshad Farshidfar et al. *Molecular Characterization and Clinical Relevance of Metabolic Expression Subtypes in Human Cancers*. *Cell Rep*. 2018. 3, 23(1).
- ¹⁴Glunde K, Serkova NJ. *Therapeutic Targets and Biomarkers Identified in Cancer Cline Phospholipids Metabolism*. *Cancer Res*. 2004;64:4270-4276.

¹⁵Bathen TF, Engan T, Krane J, Axelson D. Analysis and Classification of Proton NMR Spectra of Lipoprotein Fractions from Healthy Volunteers and Patients with Cancer or CHD. *Anticancers Res.* 2000;20:2393-2408.

¹⁶Fang G, Kim CN, Perkins CL. *CGP57148B (STI-571) Induces Differentiation and Apoptosis and Sensitizes BCR-ABL-Positive Human Leukemia Cells to Apoptosis due to Antileukemic Drugs.* *Blood.* 2000;96:2246-2253.

¹⁷Borgan E, Sitter B, Lingjarde OC. *Merging Transcriptomics and Metabolomics Advances in Breast Cancer Profiling.* *BMC Cancer.* 2010;10:1-14.

¹⁸Lyndon JC, Holmes E, Nicholson JK. *The Handbook of Metabonomics and Metabolomics.* 1ª Edición. Elsevier, Amsterdam. 2007.

¹⁹Watson JT, Sparkman OD. *Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications and Strategies for Data Interpretation.* Cuarta Edición. Hoboken, England. 2007.

²⁰ Zamora P, Trilla-Fuertes L, Zapater-Moros A, Gámez-Pozo A, Prado-Vázquez G, et al. *Pilot study of metabolomics biomarkers in breast cancer tumors treated with neoadjuvant therapy.* *AACR* [Internet]. 2019 [citado en enero de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1158/1538-7445.SABCS18-P5-12-14>

²¹ Martín-Blázquez A, Díaz C, González-Flores E, Franco-Rivas D, Jiménez-Luna C, Melguizo C, et al. *Untargeted LC-HRMS-based metabolomics to identify novel biomarkers of metastatic colorectal cancer.* *Sci Rep* [Internet]. 2019 [citado en enero de 2020]; (9). Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55952-8>

²² Li L, Zheng X, Zhou Q, Villanueva N, Nian W, Liu X, Huan T. *Metabolomics-Based Discovery of Molecular Signatures for Triple Negative Breast Cancer in Asian Female Population.* *Sci Rep* [Internet]. 2019 [citado en enero de 2020]; 10 (1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31941951>

²³ Collado Martín Ricardo, Perfil metabolómico plasmático en pacientes con cáncer de mama. Dialnet, 2017. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=110131>

²⁴ Oktay K, Santaliz-Casiano A, Patel M, Marino N, Maria V, Storniolo A, Torun H, et al. *A Computational Statistics Approach to Evaluate Blood Biomarkers for Breast Cancer Risk Stratification.* *HORM CANC* [Internet]. 2019. [citado en enero de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12672-019-00372-3>