

RESUMEN

El cáncer de pulmón es el tipo de cáncer más frecuentemente diagnosticado y la principal causa de muerte debida a cáncer en el mundo, con sólo un 15% de pacientes con una supervivencia mayor a 5 años tras el diagnóstico. La resección quirúrgica es el tratamiento estándar para los pacientes en estadios tempranos con un buen ECOG, pero el 75% de los pacientes son diagnosticados en estadios avanzados, cuando la intervención quirúrgica no es posible y entre un 35% y un 50% de los pacientes operados recaen tras una cirugía aparentemente exitosa. En los últimos años, se han logrado importantes avances en el desarrollo de la inmunoterapia y de tratamientos contra mutaciones conductoras, pero muchos pacientes todavía desarrollan resistencia, progresan y mueren. Esta resistencia terapéutica ha sido asociada a las células madre tumorales (CMTs), una población tumoral con propiedades de célula madre capaz de sobrevivir a las terapias convencionales y regenerar el tumor incluso cuando son indetectables.

En esta tesis doctoral, se establecieron cultivos primarios de pacientes de cáncer de pulmón no microcítico (CPNM) resecados, usando ensayos de formación de tumoresferas para el enriquecimiento en CMTs y condiciones de adherencia para los controles. Las tumoresferas derivadas de pacientes mostraron capacidad de autorenovación y crecimiento exponencial ilimitado, alta resistencia a agentes quimioterápicos, capacidad de invasión y diferenciación *in vitro* y un elevado potencial tumorigénico *in vivo*. Usando PCR cuantitativa, se analizaron los perfiles de expresión de los cultivos y se determinó que *NANOG*, *NOTCH3*, *CD44*, *CDKN1A*, *SNAI1* e *ITGA6* eran los genes más diferencialmente expresados entre tumoresferas y células adherentes. Los análisis de inmunoblot e inmunofluorescencia confirmaron que las proteínas codificadas por estos genes se encuentran aumentadas en tumoresferas de los pacientes con adenocarcinoma y mostraron patrones de expresión y localización diferencial entre éstas y los controles en adherencia. El valor pronóstico de los genes significativamente sobreexpresados en tumoresferas fue evaluado *in silico* en una cohorte de 661 pacientes con CPNM procedente del TCGA. De todos ellos, *CDKN1A*, *SNAI1* y *ITGA6* mostraron estar relacionados con el pronóstico de los pacientes de acuerdo a un análisis de regresión de Cox y fueron seleccionados para construir una

firma de expresión génica, denominada firma de CMTs. Los análisis de supervivencia por Kaplan-Meier mostraron que los pacientes con valores elevados de la firma tienen una supervivencia global (SG) menor para la cohorte completa de CPNM [37,7 vs. 60,40 meses, $p = 0,001$] y para la subcohorte de adenocarcinoma [36,6 vs. 53,5 meses, $p = 0,003$], pero no para la de los epidermoides. Además, el análisis multivariante mostró que la firma de CMTs es un marcador pronóstico independiente para la SG de los pacientes en la cohorte completa [HR: 1,498; IC 95%, 1,167-1,922; $p = 0,001$] y la subcohorte de adenocarcinoma [HR: 1,869; IC 95%, 1,275-2,738; $p = 0,001$]. Esta firma fue también analizada en una cohorte independiente de 245 pacientes procedentes del Consorcio Hospital General Universitario de Valencia, confirmando su valor pronóstico en los pacientes con adenocarcinoma [42,90 vs. NA meses, $p = 0,020$]. En resumen, nuestros hallazgos aportan información pronóstica relevante para los pacientes con adenocarcinoma de pulmón y establecen las bases para el desarrollo de nuevos tratamientos.