



RESUMEN DE LA TESIS DOCTORAL

DATOS DEL/ DE LA DOCTORANDO/A:

Apellidos y nombre: Callejón Leblíc, María Belén	NIF/ Pasaporte: [REDACTED]	Nacionalidad: [REDACTED]
Dirección a efectos de notificaciones: [REDACTED]		
Teléfono: [REDACTED]	EMAIL: [REDACTED]	
ORCID: 0000-0001-8100-3358 Compruebe/Obtenga su ORCID a través de la BUH		
Según formato: 0000-0000-0000-0000		

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL:

Título: Desarrollo de metodologías ómicas para el estudio y diagnóstico precoz del cáncer de pulmón.
Programa Oficial de Doctorado al que se adscribe: Ciencia y Tecnología Industrial y Ambiental
Departamento: Química
Director/es: Dr.: José Luis Gómez Ariza ORCID: 0000-0001-7997-7444 Dra.: Tamara García Barrera ORCID: 0000-0002-8859-9550 Dr.: Antonio Pereira Vega ORCID: 0000-0002-6281-4793

Resumen en **castellano** que será usado para la base de datos del Ministerio TESEO (**máx. 4000 caracteres**)

El cáncer de pulmón (CP) constituye una de las muertes más comunes por neoplasia en el mundo provocando más de 1.300.000 muertes al año. La supervivencia a 5 años comprende un 20 % cuando la enfermedad se diagnostica en estadios precoces, disminuyendo a un 3% cuando se encuentra en estados avanzados. Por ello, la búsqueda de biomarcadores capaces de detectar de forma precoz el CP, así como capaces de evaluar la progresión del mismo, constituye un importante reto en medicina. En este sentido, las metodologías ómicas son herramientas de análisis muy poderosas que permiten determinar un gran número de moléculas, como metabolitos, proteínas o metales unidos a proteínas. Estas biomoléculas pueden sufrir alteraciones en respuesta a una enfermedad, por lo que podrían servir como marcadores de diagnóstico. Así, en esta Tesis Doctoral se han aplicado tres metodologías ómicas (metabolómica, ionómica y metalómica), basadas en la espectrometría de masas, a muestras biológicas humanas de pacientes con cáncer de pulmón con el fin de identificar biomoléculas alteradas en esta enfermedad que puedan servir como marcadores de diagnóstico.

Con el fin de abarcar una mayor cobertura de metabolitos se optimizó una plataforma metabolómica "no dirigida" basada en dos técnicas analíticas: la cromatografía de gases (GC-MS) y la infusión directa (DI-MS) acopladas a espectrometría de masas. Esta plataforma fue aplicada a muestras de pacientes con CP, pacientes control y pacientes con diversas enfermedades pulmonares no cancerosas como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica EPOC. Las muestras empleadas en el estudio fueron muestras de suero sanguíneo, de orina, y como principal novedad del estudio, muestras de lavado broncoalveolar (LBA), de las que no había antecedentes en bibliografía. Para ello, se compararon estadísticamente mediante el análisis multivariante de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) los perfiles metabolómicos de pacientes CP con los de personas sanas con el fin de encontrar metabolitos diferentes de forma significativa entre los grupos. El análisis PLS-DA también fue



Tesis Doctoral
aplicado para comparar la existencia de metabolitos alterados en pacientes con EPOC y evaluar su posible relación con el CP. Así mismo, se evaluó la diferenciación metabólica entre estadios tempranos y avanzados de la enfermedad.

Por otro lado, se desarrolló una metodología ionómica basada en ICP-QQQ-MS para la determinación multielemental en muestras de suero, orina y LBA con el fin de evaluar la distribución de oligoelementos y metales tóxicos en CP. Además, a las muestras de suero sanguíneo se les aplicó un método de fraccionamiento para la separación de la fracción de alta (HMM) y baja (LMM) masa molecular y determinar la concentración de elementos en cada fracción. Finalmente, se desarrolló una metodología metalómica basada en la técnica de dilución isotópica por ICP-QQQ-MS para determinar la concentración de 3 selenoproteínas importantes presentes en suero: glutatión peroxidasa (eGPx), selenoproteína P (SELENOP) y selenoalbúmina (SeAlb). Esta metodología también permitió la separación de moléculas pequeñas de selenio.

De esta forma, la aplicación de estas plataformas metabólicas, ionómicas y metalómicas en diferentes muestras biológicas de pacientes con CP, han permitido estudiar la alteración de metabolitos, metales y biomoléculas de selenio asociadas a la enfermedad del CP aportando nuevas contribuciones a la patología de esta enfermedad.

Resumen en **inglés** que será usado para la base de datos del Ministerio TESEO (**máx. 4000 caracteres**)

Lung cancer (LC) is one of the most common deaths from neoplasia in the world, causing more than 1,300,000 deaths per year. The 5-year survival comprises 20% when the disease is diagnosed in early stages, decreasing to 3% in advanced stages. Therefore, the search for biomarkers capable of early detection of LC, as well as capable of evaluating its progression, is a challenge of great interest in medicine. In this sense, omics methodologies are very powerful analysis tools that allow determining a large number of molecules (metabolites, proteins, metals bound to proteins). These biomolecules can undergo alterations in response to a disease, so they could serve as diagnostic markers. Thus, in this Doctoral Thesis, two omic methodologies (metabolomics, ionomics and metallomics) based on mass spectrometry have been applied to human biological samples of patients with lung cancer in order to identify altered biomolecules in this disease that can serve as biomarkers.

In order to achieve greater metabolite coverage, a "non-target" metabolomic platform was optimized based on two analytical techniques: gas chromatography (GC-MS) and direct infusion (DI-MS) coupled to mass spectrometry. This platform was applied to samples of patients with PC, control patients and patients with various non-cancerous lung diseases such as chronic obstructive pulmonary disease COPD. The samples used in the study were samples of blood serum, urine, and as the main novelty of the study, samples of bronchoalveolar lavage (BAL), of which there was no background in the literature. Therefore, the metabolic profiles of CP patients with those of healthy people were compared statistically by means of the multivariate analysis of partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) in order to find significantly different metabolites between the groups. The PLS-DA analysis was also applied to compare the occurrence of altered metabolites in patients with COPD and evaluate their possible relationship with PC. Likewise, the metabolomic differentiation between early and advanced stages of the disease was evaluated. On the other hand, an ionomic methodology based on ICP-QQQ-MS was developed for multielemental determination in samples of serum, urine and BAL in order to evaluate the distribution of trace elements and toxic metals in PC. In addition, serum samples were subjected to a



fractionation method for the separation of the high fraction (HMM) and low fraction (LMM) molecular mass and determine the concentration of elements in each fraction. Finally, a metallomic methodology based on the isotope dilution technique by ICP-QQQ-MS was developed to determine the concentration of 3 important selenoproteins present in serum: glutathione peroxidase (eGPx), selenoprotein P (SELENOP) and selenoalbumin (SeAlb). This methodology also allowed the separation of low molecular mass species of selenium.

Thus, the application of these metabolomic, ionomic and metallomic platforms in different biological samples from patients with PC has allowed the study of the alteration of metal metabolites and selenium biomolecules associated with PC disease, giving place to new contributions to the pathology of this disease.

Palabras claves en **castellano** que deben coincidir con las enviadas a la base de datos TESEO (**máx. 5 descriptores o palabras claves, separadas por coma**)

Cáncer de pulmón, metabolómica, metalómica, ionómica, lavado broncoalveolar.

Palabras claves en **inglés** que deben coincidir con las enviadas a la base de datos TESEO (**máx. 5 descriptores o palabras claves, separadas por coma**)

Lung cancer, metabolomics, metallomics, ionomics, bronchoalveolar lavage fluid.

Materias UNESCO (seleccione, picando en [+], alguno de los campos, disciplinas o subdisciplinas que aparecen en la siguiente url: <http://rabida.uhu.es/dspace/page/unesco>)

2301.03. Análisis Cromatográfico.

2301.10. Espectrometría de masas.

¿TESIS POR COMPENDIO DE PUBLICACIONES?

 SI NO

(tachar lo que no proceda)

Algunas publicaciones, por respeto a los posibles conflictos de propiedad intelectual relativos a su difusión, serán sustituidas por referencia, resumen y DOI o enlace al artículo.

En Huelva, _____ 1 de abril de 2019

Firma del interesado

Fdo. _____ María Belén Callejón Lebllic