

MODIFICACIONES EPIGENÉTICAS Y MICROARNS EN EL DIAGNÓSTICO Y TERAPIA DEL CÁNCER DE PULMÓN

LUIS FERNANDO TUME FARFÁN

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA, PERÚ. LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR, INCA BIOTEC SAC, TUMBES, PERÚ

RESUMEN

Nuestras células tienen patrones de expresión génica que pueden ser sobre alterados y dar lugar a cáncer. La epigenética es el estudio de los cambios en la expresión génica sin originar cambios en la secuencia del ADN. Las alteraciones epigenéticas y genéticas son consideradas como dos mecanismos independientes que participan en la aparición y progresión del cáncer. Durante la última década se ha enfatizado al campo de la epigenética para buscar aplicaciones en el diagnóstico y la terapia en esta enfermedad junto con los microARNs que juegan un papel muy importante en el silenciamiento de ciertos genes frente a ciertas condiciones. En esta revisión se discuten las modificaciones epigenéticas y microARNs que son notorios en el cáncer de pulmón así como la importancia de ambos en el diagnóstico temprano de la enfermedad y terapia.

PALABRAS CLAVE: Epigenética, cáncer, pulmón, microARNs, terapia.

SUMMARY

We know that our cells have gene expression patterns that can be on altered over and give rise lead to cancer. The epigenetic is the study of the changes in the gene expression without modifying the DNA sequence. The epigenetic and the genetic alterations are considered as two separate mechanisms involved in the onset and progression of the cancer. During the last decade have emphasized the field of the epigenetics to find applications in the diagnosis and therapy in this disease, along with microRNAs play an important role in the silencing of certain genes against certain conditions. In this review, we study and discussed the epigenetic changes and microRNAs that are notorious in the lung cancer and the importance of both in the early diagnosis of this disease and his therapy they are discussed.

KEY WORDS: Epigenetic, cancer, lung, microRNA, therapy.

Recibido: 22/09/2014 Revisado: 22/12/2014

Aceptado para publicación: 18/02/2015

Correspondencia: Dr. Luis F Tume F. Universidad Nacional de Piura, Perú. E-mail: luisferscr@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer en todo el mundo ⁽¹⁾, con más de 1,6 millones de casos diagnosticados anualmente ⁽²⁾. En los primeros años de la revolución de la biología molecular, la investigación del cáncer se ha centrado principalmente en los cambios genéticos (es decir, aquellos que alteran las secuencias de ADN). Aunque esto ha sido de gran utilidad en nuestra comprensión de la patogénesis y la biología del cáncer, hay otro ámbito en el proceso de carcinogénesis que no implica cambio de la secuencia de ADN, denominado epigenética ⁽³⁾. En 1942, Conrad H Waddington acuñó este término. Los procesos epigenéticos son naturales y esenciales para muchas funciones del organismo, pero si se ocurren de forma incorrecta, hay efectos adversos en la salud. El notable avance en este nuevo campo ha llamado la atención debido a las posibles aplicaciones de estos nuevos avances en la medicina y diversos campos de la investigación biomédica. El resultado es una apreciación más amplia de los fenómenos epigenéticos en la etiología de enfermedades humanas comunes, en particular el cáncer.

El cáncer por ser un proceso multifactorial complejo que incluye cambios epigenéticos, se ha visto recientemente que estas alteraciones podrían utilizarse como “biomarcadores” para el diagnóstico molecular en varios tipos de cáncer, en especial el cáncer de pulmón, porque muestran ser seguros en el diagnóstico y el pronóstico, además estas alteraciones podrían ser indicadoras de exposición temprana a determinados cancerígenos potenciales como los que se encuentran en el cigarrillo ^(4,5).

En general, las modificaciones epigenéticas son reversibles reordenamientos de la cromatina en las células normales que modulan la expresión

de genes, sin cambiar la secuencia de ADN. Las alteraciones de este equilibrio, que afectan principalmente a los mecanismos de la metilación del ADN, hipermetilación, acetilación de histonas, son frecuentemente implicadas en la génesis del cáncer. En las células neoplásicas, la abundancia de las histonas desacetiladas se asocia generalmente con la hipermetilación del ADN y silenciamiento de genes. Varios compuestos antineoplásicos están siendo dirigidos a las histona desacetilasa *in vitro* ⁽⁶⁾ y a otros mecanismos epigenéticos.

El objetivo de esta revisión es discutir la evidencia actual sobre las modificaciones epigenéticas que ocurren en el cáncer de pulmón, incluyendo el papel de los microRNA en la regulación de la expresión de ciertos genes, así como la importancia de estos mecanismos en el diagnóstico temprano de la enfermedad.

DIFERENCIAS ENTRE GENÉTICA Y EPIGENÉTICA

Muchos procesos celulares, incluyendo la expresión de genes y la replicación del ADN, a menudo se rigen por mecanismos que entran en la categoría de “la genética clásica”. Esto significa generalmente que son controlados por elementos tales como promotores, potenciadores, o sitios de unión para proteínas represoras, que están presentes o ausentes en la secuencia de ADN. Un ejemplo de este tipo de regulación es el control de la expresión de un oncogén. En las células normales (no cancerosas), este gen no se expresa. Sin embargo, en una célula cancerosa, este gen podría haber adquirido una mutación, que es un cambio en la secuencia de ADN, que permite que el oncogén que se exprese, y por tanto pueden contribuir a la progresión del cáncer. Además estos mecanismos de regulación, casi todos los procesos celulares también pueden ser regulados por mecanismos epigenéticos. La palabra “epigenética” literalmente significa “además de cambios en la secuencia genética”.

Los mecanismos epigenéticos pueden ser tan importantes para los eventos biológicos como los mecanismos genéticos, y también puede dar lugar a cambios estables y heredables. Sin embargo, la gran diferencia entre la regulación genética y epigenética es que los mecanismos epigenéticos no implican un cambio en la secuencia de ADN, pero si tienen un importante papel en la modificación de la expresión génica mientras que los mecanismos genéticos implican la secuencia y los cambios o mutaciones del ADN primordial de esta secuencia ⁽⁷⁾.

Las alteraciones epigenéticas y genéticas son consideradas como dos mecanismos independientes que participan en la carcinogénesis. La secuenciación completa del exoma de varios tipos de cáncer ha dado como resultado el inesperado descubrimiento de muchas mutaciones que inactivan a los genes que controlan el epigenoma. Estas mutaciones tienen la capacidad de alterar los patrones de metilación del ADN, modificar las histonas, reubicar a los nucleosomas. La alteración genética del epigenoma contribuye al cáncer al igual que el proceso epigenético puede causar mutaciones puntuales y desactivar los mecanismos de reparación del ADN. Esta interferencia entre el genoma y el epigenoma abre nuevas posibilidades para la terapia contra el cáncer ⁽⁸⁾.

TUMORIGÉNESIS Y EPIGENÉTICA

La tumorigénesis es un proceso progresivo complejo y multifactorial de la transformación de células normales en células malignas, se caracteriza por la acumulación de múltiples fenotipos hereditarios específicos de cáncer provocados por mutaciones y cambios epigenéticos que cambian el patrón de expresión génica. La evidencia sugiere que la exposición ambiental a sustancias naturales, agentes químicos y físicos, tienen un papel crucial en el cáncer humano. En un sentido amplio, la carcinogénesis puede ser inducida a través de mecanismos ya sean genotóxicos

o no genotóxicos, sin embargo, ambos causan importantes cambios epigenéticos. Un ejemplo de alteraciones epigenéticas inducidas por varios agentes carcinógenos químicos, son el arsénico, el 1,3-butadieno, agentes farmacéuticos y biológicos ⁽⁹⁾. Las modificaciones epigenéticas, por ciertos mecanismos, se cree que desaparecen con cada nueva generación, durante la gametogénesis y durante el proceso de desarrollo. Sin embargo, se ha sugerido que los cambios epigenéticos pueden mantenerse al menos cuatro generaciones posteriores.

MODIFICACIÓN DE LAS HISTONAS

Las modificaciones de las histonas son uno de los principales mecanismos epigenéticos que regulan la expresión de genes y cuando están desequilibrados conducen a cáncer ⁽¹⁰⁾. Las histonas no son solo consideradas como proteínas simples de “embalaje de ADN”, que están sujetas a un gran número de modificaciones postraduccionales incluyendo acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación (modificación postraduccional implicado en diversos procesos celulares, tales como el transporte nuclear citosólico, la regulación transcripcional, apoptosis, estabilidad de proteínas, respuesta a estrés, y la progresión a través del ciclo celular), ribosilación de ADP, deiminación (citrulinación) e isomerización de la prolina. Entre estas modificaciones, la acetilación de histonas y la metilación están relativamente bien estudiadas. El estado de metilación y acetilación de residuos de lisina o arginina específicos desempeñan un papel crucial en la regulación de la expresión génica ⁽¹¹⁾.

METILACIÓN DEL ADN

Los cambios epigenéticos son alteraciones en la expresión génica, independientemente de los cambios en la secuencia de ADN. Muchas modificaciones epigenéticas, tales como la metilación del ADN tienen notorios efectos en la

expresión génica. La metilación del ADN en las islas CpG silencia la expresión génica al interferir con maquinaria transcripcional. La metilación del ADN puede interferir en la progresión del ciclo celular y la diferenciación celular, porque los reguladores del ciclo celular, tales como *p16*, *p21*, *p27*, y *p53*, son silenciados por la metilación en muchos cánceres. Un ejemplo de ello es el gen receptor del ácido retinoico (RAR- β 2), importante en la diferenciación ⁽¹⁰⁾.

La metilación del ADN ocurre en los residuos de citosina en la secuencia. Está bien establecido que la metilación del ADN actúa como un represor transcripcional de la expresión génica mediante el reclutamiento de proteínas represivas como la proteína 1 de unión a Metil-CpG (MeCP1). Estas proteínas dificultan la transcripción a través del reclutamiento de otros factores tales como el complejo de remodelación del nucleosoma. En el caso de MeCP2 contribuye a la represión de la transcripción a largo plazo. La unión de estos factores proteínicos conduce a la condensación de ADN y le confieren estabilidad al cromosoma ^(11,12).

Este proceso de metilación del ADN es mediado por las enzimas denominadas ADN metiltransferasas (DNMT). La DNMT3a y DNMT3b son responsables de la metilación durante la embriogénesis. DNMT1 se ha caracterizado como la metiltransferasa que mantiene la metilación del ADN entre divisiones celulares y es altamente expresada en células de cáncer ⁽¹⁰⁾.

Varios estudios han demostrado que la metilación de los genes supresores de tumores conduce a su inactivación de genes y presenta un importante mecanismo de desarrollo de tumores. Las proteínas de dominio PR (PRD1-BF1 y RIZ) denominadas PRDM, son una familia de factores de transcripción de tipo Kruppel, de los cuales diecisiete son conocidos actualmente en el humano. La evidencia actual sugiere que los miembros de la familia PRDM juegan un

papel importante en la diferenciación celular y transformación maligna y que actúan como supresores de tumores. Para esto la droga 5-aza-2-dC reduce la metilación de genes de PRDM2, PRDM5, PRDM16 en las líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón A549 y HTB-182 reduciendo subsecuentemente su crecimiento. En la línea de carcinoma de células escamosas de pulmón SK-MES-1 esta droga también ha sido probada con los mismos resultados. Consistentemente, 5-aza-2dC aumenta los niveles de ARN mensajero y expresión de las proteínas de PRDM2, PRDM5, PRDM16 ⁽¹¹⁾.

Recientes estudios de secuenciación de genomas de algunos tipos de cánceres humanos han identificado mutaciones específicas del tumor en los genes que codifican proteínas que funcionan en la regulación de la cromatina, aunque su importancia funcional no siempre ha sido clara. Un estudio realizado por Zhu y col. ⁽¹²⁾ han identificado mutaciones en la histona-lisina-N-metiltransferasa *SETD2*, demostrando que estas mutaciones cooperan con otras aberraciones genéticas en la leucemia ⁽¹³⁾.

La metilación del ADN puede contribuir al desarrollo de la resistencia endocrina adquirida, porque la ablación hormonal es el tratamiento de elección para los tumores de mama sensibles a las hormonas, pero hasta el 40 % de los pacientes inevitablemente presentan recaída, y estos tumores refractarios de la hormona a menudo tienen un mal pronóstico. Como alternativa, los tratamientos deben centrarse en seleccionar subpoblaciones resistentes con estas alteraciones epigenéticas ⁽¹⁴⁾.

La metilación reversible de citosinas puede ser con medida precisión por diversos métodos moleculares y patrones de metilación del ADN que están vinculados a importantes vías tumorigénicas. Los cambios en la metilación clínicamente relevantes son conocidos en cánceres humanos comunes tales como el de cuello uterino, próstata, mama, colon, vejiga,

estómago y pulmón. La metilación diferencial puede tener un papel central en el desarrollo y el resultado de la mayoría de los tumores malignos humanos. El advenimiento de secuenciación de última generación permitirá analizar la epigenética junto con herramientas bioinformáticas para revelar un gran número de nuevos objetivos para el pronóstico y la intervención terapéutica ⁽¹²⁻¹⁵⁾.

Zhang y col. ⁽¹⁶⁾ encontraron una alta frecuencia de nueve genes metilados (APC, CDH13, KLK10, DLEC1, RASSF1A, EFEMP1, SFRP1, RAR β and p16(INK4A) en NSCLC, también casos de fenotipo positivo metilador de islas CpG fue detectado en 65,38 % (51/78) de tejidos de NSCLC, mientras que solamente solo en 1,28 % (1/78) de tejidos normales adyacentes. Esta metilación aberrante está asociada con etapas avanzadas, metástasis linfática y poca supervivencia. Este fenotipo con metilación de las islas CpG también muestra una alta frecuencia de hipermetilación específica de tumores en el plasma de pacientes con NSCLC. Comparando con plasmas libres de cáncer y un conjunto de 5 genes (APC, RASSF1A, CDH13, KLK10 y DLEC1) se logra una sensibilidad de 83,64 % y una especificidad de 74,0 % para el diagnóstico de cáncer.

La metilación de la triada de histidina frágil (FHIT), dominios de las proteínas Ras y genes del receptor beta del ácido retinoico (RAR β) pueden ser relacionados con la progresión de la oncogénesis pulmonar ⁽¹⁷⁾; lo que indica que podrían usarse como biomarcadores para el pronóstico y seguimiento de la enfermedad ⁽¹⁸⁾. Kim y col. ⁽¹⁹⁾ encontraron que la hipermetilación de los genes p16, RARbeta, H-caderina, y dominios de las proteínas Ras no fueron asociados con pacientes seniles y fumadores, mientras que la hipermetilación de los promotores de los genes FHIT genes ocurre en este tipo de pacientes. Un total del 68 % de muestras de lavados bronquiales de 85 pacientes con NSCLC mostró metilación

de al menos uno de los genes p16, RARbeta, H-caderina, y Ras. Mientras que en muestras de una población Egipcia fueron 53,6 % para FHIT, 25 % para la transferasa de glutatión (GSTP1), y 0 %. La hipermetilación de los genes FHIT tiene una alta correlación significativa con los pacientes fumadores ⁽²⁰⁾.

La proteína transmembrana con un solo dominio tipo EGF y dos dominios de folistatina (TMEFF2) se silencia epigenéticamente en numerosos tipos de tumores, lo que sugiere un papel potencial como supresor de tumores. TMEFF2 tiene diferentes patrones de metilación en el cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC) en comparación con tejidos normales. Lee y col. ⁽²¹⁾ encontraron un 52 % de metilación de TMEFF2 en los tejidos tumorales, en particular adenocarcinomas. La metilación de este gen es significativamente más frecuente en los tumores sin mutación de EGFR que aquellos con mutación de EGFR. La metilación de esta proteína podría ser usada en el diagnóstico de este tipo de cáncer de pulmón.

Las anomalías en el gen H-cadherina se han reportado en varios tumores malignos humanos, incluyendo NSCLC. La metilación aberrante del promotor H-cadherina también ha sido reportado en NSCLC. Existe una asociación entre la metilación del H-cadherina y la progresión tumoral en este tipo de cáncer, pero no tenía importancia pronóstica en pacientes con NSCLC en estadio temprano de la patología. La metilación del gen de la H-cadherina se observó en el 43 %. La prevalencia de la metilación del H-cadherina se asoció significativamente con el estadio patológico y se observó en el 44 % de los pacientes con enfermedad en estadio I, en el 23 % de los pacientes con enfermedad en estadio II, en el 59 % de los pacientes con estadio III, y en el 88 % de los pacientes con enfermedad en estadio IV. Sin embargo, la metástasis a los ganglios linfáticos se relaciona inversamente con la metilación H-cadherina ⁽²²⁾.

HISTONA-LISINA N-METILTRANSFERASA

La senescencia de células de fibroblastos de pulmón humano se asocia con grandes cambios en el perfil de expresión de genes, incluyendo la expresión diferencial de los reguladores epigenéticos y transcripcionales. Entre ellos, la histona-lisina N-metiltransferasa y juega un papel en la limitación de la inestabilidad genómica en células en división se regula a la baja en células senescentes, en correlación con una disminución en trimethylation H3K9 global, reducida niveles de H3K9me3 en regiones de secuencias de ADN repetitivo, como los satélites y los elementos de transposición ⁽²³⁾.

DEACETILASAS DE HISTONAS

Las deacetilasas de histonas en el cáncer de pulmón también podrían servir para el diagnóstico temprano, porque son indicadores de cambios epigenéticos, debido a su función de alterar la estructura del cromosoma variando la accesibilidad de los factores de transcripción. Los niveles elevados de histona desacetilasas (HDACs) tienen una gran correlación en la progresión del cáncer de pulmón ⁽²⁴⁾.

HIPERMETILACIÓN

En el cáncer hay un número de genes con hipermetilación aberrante que se asocian con la recurrencia de la enfermedad. Es evidente que la hipermetilación aberrante inactiva los genes relacionados con el control del ciclo celular, apoptosis, y la reparación del ADN (por ejemplo, la pérdida de expresión *MLH1* tienen un papel importante en la carcinogénesis y estos hallazgos sirven como enfoques para la prevención, el diagnóstico, la evaluación de riesgos, y el tratamiento de la enfermedad). Los análisis para la detección tienen alta sensibilidad para la identificación de las células cancerosas en muestras de esputo, sangre y biopsia. Hay muchos intentos de utilizar inhibidores de la

metilación como agentes contra esta patología, y las anomalías epigenéticas útiles como biomarcadores de la sensibilidad a los fármacos contra el cáncer y para identificar las características biológicas de las células tumorales para determinar las mejores opciones de tratamiento basadas en la hipermetilación. Por ejemplo, la hipermetilación aberrante del gen *CHFR* se correlaciona con la sensibilidad celular a los inhibidores de microtúbulos, y esto puede ser útil en el tratamiento de cáncer endometrial tipo I. Un objetivo primordial de la epigenética es identificar el tipo de metilación hereditaria responsable del cáncer para mejorar el diagnóstico y el tratamiento basado en el control de la metilación ⁽²⁵⁾.

La hipermetilación de las islas CpG es un fenómeno observado comúnmente durante el desarrollo y progresión de los tumores humanos. En el diagnóstico se ha propuesto la detección de islas CpG metiladas en materiales biológicos fácilmente accesibles, tales como el suero, tiene el potencial de ser útil para el diagnóstico temprano de cáncer. La mayoría de los métodos utilizados actualmente para detectar islas CpG metiladas se basan en la conversión de bisulfito de sodio de ADN genómico, seguido de reacciones de PCR. Rauch y col. ⁽²⁶⁾ describen un método, ensayo de recuperación de la isla de CpG metiladas (MIRA) que no depende de la utilización de bisulfito de sodio, pero tiene sensibilidad y especificidad similar a los enfoques basados en bisulfito. Por este método, se ha logrado evaluar la metilación del gen de supresión tumoral *RARβ2* en el ADN circulante en el cáncer de pulmón, especialmente NSCLC ^(27,28). Esta hipermetilación puede detectarse utilizando 1 ng de ADN o 3 000 células. MIRA es una técnica específica y sensible, pero no laboriosa que puede ser clínicamente útil en la detección y diagnóstico de cualquier enfermedad asociada a la metilación del ADN, incluyendo el cáncer de pulmón.

El fenotipo metilador de islas CpG se ha

reportado que ser útil para predecir el pronóstico y respuesta al tratamiento en una variedad de tipos de tumores, pero no queda claro si CIMP es un fenómeno universal a través de neoplasia humana específicamente en el cáncer de pulmón o si debe haber definiciones específicas del cáncer del fenotipo ⁽²⁹⁾.

Detección en la metilación del ADN genómico en sangre sería una ventaja en el diagnóstico precoz. Zhang y col. ⁽³⁰⁾ desarrollaron un método de diagnóstico en trabajadores de hornos de coque. El y su equipo recogieron muestras de orina y de células mononucleares de sangre periférica (CMSP). Encontraron que los genes p14 (ARK) y p16 (INK4a) presentaban altas tasas de metilación. Este estudio indica que los agentes cancerígenos ambientales alteran los patrones de metilación de genes implicados en muchos procesos celulares que su silenciamiento epigenético conduce a cáncer.

Otros estudios han encontrado una hipermetilación en 10 genes (DAPK, FHIT, H-cadherina, MGMT, p14, p16, RAR-beta, RASSF1A, RUNX3, y TIMP-3) en los casos de NSCLC por PCR específica de metilación (MSP). Las frecuencias de metilación de los 10 genes examinados en el CPNM fueron 26 % para DAPK, 34 % para FHIT, 26 % para H-cadherina, 14 % de MGMT, 8 % para p14, 27 % para p16, 38 % para RAR-beta, 42 % para RASSF1A, 25 % para RUNX3, y el 12 % para TIMP-3. Clínicopatológicamente, se encontró que los pacientes con todos los estadios de la enfermedad que tenían RASSF1A positivo, RUNX3, o estado de metilación H-cadherina tienen una más corta supervivencia, en comparación con los pacientes con un estado negativo de metilación para los genes (RASSF1A, RUNX3, H-cadherina) ⁽³¹⁾.

Otros genes que pueden encontrarse hipermetilados en pacientes con cáncer de pulmón son CHRNB4 (receptores colinérgicos, nicotínico alfa 3) y el gen de la transcriptasa inversa de telomerasa (TERT) con cambios de

expresión significativos. El tratamiento con decitabina origina la reducción de los niveles de metilación de ciertos promotores de genes, los niveles de transcripción elevados de CHRNB4 y CHRNB3, y una ligera regulación a la baja de TERT. La desregulación epigenética del gen de la subunidad del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR) los genes que en el caso de CHRNB4 está fuertemente asociado con la susceptibilidad al cáncer y un impacto funcional en el potencial tumorigénico ^(32,33).

MICROARNs EN EL CÁNCER DE PULMÓN

Los microARN (miRNA) son una clase de moléculas de ARN de 21 a 23 nucleótidos aproximadamente que juegan un papel crítico en la regulación de varios tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de pulmón humano. Entre ellos, miR-26a se ha identificado como un regulador relacionado con el tumor en varios cánceres, pero sus propiedades fisiopatológicas y correlación con el desarrollo de cáncer de pulmón humano son consistentes en algunas etapas de la enfermedad ⁽³⁴⁾. Hay varios mecanismos de regulación postranscripcional de los microARNs donde origina diferencias de expresión, inhibe la proliferación celular, la apoptosis inducida, y la metástasis. Zhang y col. ⁽³⁵⁾ demostraron que los miR-26a y miR-26b tienen un papel importante en el bloqueo de la proliferación, la migración y la invasión de las células del cáncer de pulmón. Es importante destacar que la expresión de ambos miR-26a/b se reduce significativamente en las muestras de tejido de cáncer de pulmón humano en comparación con los tejidos normales adyacentes.

Así como la hipometilación del genoma es una alteración epigenética común en tumores humanos, donde a menudo conduce a la activación aberrante de un grupo de genes específicos de la línea germinal, comúnmente se conoce como “genes de la línea germinal del cáncer”. El

transcriptoma la línea germinal del cáncer (CT-GABRA3) muestra una activación dependiente de la hipometilación del ADN en diversos tumores, incluyendo melanoma y carcinoma de pulmón. Pero además, es importante destacar que, CT-GABRA3 alberga un microARN (miR-105), que ha sido recientemente identificado como un promotor de la metástasis del cáncer por su capacidad de debilitar las barreras endoteliales vasculares seguido de la secreción de vesículas extracelulares que contienen material genético que se cree que contienen microARNs que participan en la progresión del cáncer de pulmón y otros tipos de cáncer ⁽³⁶⁾.

La sobreexpresión del potenciador de la proteína homólogo zeste 2 (EZH2) se ha encontrado en una amplia gama de tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Los microARNs (miRNAs) pueden regular también la expresión de este gen tales como el microARN-101 (miR-101). La reducción de expresión de miR-101 está asociada con la sobreexpresión de EZH2 en los tejidos tumorales de NSCLC. En experimentos en donde se ha inducido a la expresión de miR-101 en células con sobreexpresión de EZH2 conduce a la reducción de la proliferación y invasión de células NSCLC aumentando su sensibilidad de estas células malignas a la apoptosis mediada por paclitaxel a través de la inducción de la expresión de la proteína pro-apoptótica Bim ⁽³⁷⁾. Otro microARN que tiene importantes implicancias en el diagnóstico y el tratamiento es miR-451 en correlación con la diferenciación del tumor, estadio patológico y la metástasis de los ganglios linfáticos; este regula la supervivencia de las células de NSCLC en parte a través de la regulación a la baja de la proteína relacionada con Ras-14 (RAB14) ⁽³⁸⁾.

La kinasa 1 tipo Polo (Plk1) también es regulada por microARNs. Es altamente expresada en muchos cánceres humanos y regula los pasos críticos en el proceso de mitosis. MiR-

100 es regulado a la baja significativamente en los tejidos con cáncer de pulmón con una esperanza de vida mínima que mayormente está en tumores avanzados con metástasis en los ganglios linfáticos de los pacientes. Un estrategia terapéutica sería imitar a miR-100, es decir, lograr que las células expresen este microARN para conducir a la inhibición del crecimiento en este tipo de cáncer ⁽³⁹⁾.

Los biogénesis y actividad de los microARNs puede ser muy bien regulada, tal es el caso del regulador inmune de mamíferos MCPIP1 (Zc3h12a RNasa) actúa como un supresor de la actividad de microARN, lo que se ha sugerido que MCPIP1 podría tener un importante rol en la regulación de microARNs que participan en la progresión del cáncer. Con ensayos de interacciones microRNA-mRNA, se logró establecer que MiR-124, MiR-133a y miR-203 funcionan como microRNAs supresores de tumores silenciados por la metilación del ADN en ciertos tipos de cáncer. Los microRNA asociados a la senescencia tales como el miR-22, suprimen el crecimiento tumoral y la metástasis. El potencial terapéutico de estos y otros microARNs en conjunto podrían usarse para prevenir y tratar el cáncer de pulmón o también sensibilizarlos frente a agentes terapéuticos convencionales ⁽⁴⁰⁾.

El tratamiento con Tricostatina A, un inhibidor de las histona deacetilasas (HDAC) también restaura los niveles de expresión de miR-373 en las células cancerosas. La transfección de miR-373 en estas células reduce los niveles de expresión marcadores mesenquimales, típicos en el cáncer avanzado. IRAK2 y LAMP1 son blancos de miR-373. La inhibición de estos dos genes mostró efectos biológicos similares a los la sobreexpresión de miR-373 ⁽⁴¹⁾.

FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN GATA2 EPIGENÉTICAMENTE REPRIMIDO EN CÁNCER DE PULMÓN

GATA2 fue descrito recientemente como

un factor de supervivencia crítico y objetivo terapéutico el cáncer de pulmón con mutaciones en KRAS. Ensayos *in vitro* se han utilizado para estudiar la represión GATA2 en la supervivencia celular y durante la transformación inducida por carcinógenos como el tabaco. El promotor de GATA2 no es metilado en células normales, pero notablemente metilado en tumores de pulmón (96 %) y líneas celulares de NSCLC (97 %) ⁽⁴²⁾.

EPIDEMIOLOGÍA EPIGENÉTICA EN EL CÁNCER DE PULMÓN

Epidemiología epigenética incluye el estudio de la variación en los rasgos epigenéticos y el riesgo de enfermedad en las poblaciones. Su aplicación al campo del cáncer ha proporcionado información sobre cómo el estilo de vida y los factores ambientales que influyen en la epigenoma y cómo epigenética eventos pueden estar implicados en el proceso de neoplasia pulmonar. Además, tiene el potencial de traer beneficio a los pacientes a través de la identificación de marcadores de diagnóstico que permitan la detección precoz de la enfermedad y los marcadores de pronóstico que puede informar sobre estrategias de tratamiento apropiadas. Sin embargo, hay una serie de problemas asociados con la realización de dichos estudios, y con la identificación de biomarcadores que se puede aplicar a la práctica clínica ⁽⁴³⁾.

DETECCIÓN DE CAMBIOS EPIGENÉTICOS EN SANGRE Y ESPUTO

El análisis de mutaciones epigenéticas en la sangre de ADN circulante (cirDNA) es una tendencia prospectiva para la creación de métodos no invasivos para el diagnóstico, debido a las alteraciones en los patrones de metilación del ADN son algunos de los eventos más tempranos y más comunes en la tumorigénesis y puede proporcionar una nueva forma de monitorización del tratamiento en el cáncer de eficiencia ⁽⁴⁴⁾. El uso de enfoque diferente basado en la selección de

las secuencias de ADN circulante hipermetiladas por medio de la proteína de unión a ADN-grupo metil (ensayo de recuperación de la isla CpG metilado). Kapitskaya y col. ⁽⁴⁵⁾ evaluaron la metilación para el gen de supresión tumoral RARβ2 en ADN circulante en el cáncer de pulmón de células no pequeñas y detectó una mayor metilación de este gen en los pacientes con este cáncer en comparación con donantes.

Recientemente se ha sugerido una manera de explorar la hipermetilación del ADN en el esputo o por su capacidad diagnóstica complementaria, no invasiva en el cáncer de pulmón. Hubers y col. ⁽⁴⁶⁾ utilizaron muestras de esputo de 20 pacientes con cáncer para detectar hipermetilación del ADN. Ellos encontraron hipermetilación en los genes RASSF1A (supresor tumoral), citoglobina (proteína pulmonar), PHACTR3 (regulador de fosfatasa y actina 3), 3OST2 (3-O-sulfotransferasa 2) y PRDM14 (regulador transcripcional), en donde la combinación de la hipermetilación de RASSF1A y 3OST2 tuvo una sensibilidad del 85 % con una especificidad del 74 %. La hipermetilación RASSF1A en el esputo y aliento exhalado son complementarios para el diagnóstico del cáncer de pulmón, con una sensibilidad del 100 %, pero aún estos hallazgos debe ser validados aún más.

Al igual que RASSF1A existen muchos más genes supresores de tumores (TSG) que su silenciamiento por mecanismos epigenéticos pueden servir como marcadores clínicos para la detección de la enfermedad, la progresión y la respuesta terapéutica. Esta hipermetilación y silenciamiento de TSG en todo el genoma son características comunes de las células cancerosas. Los métodos de diagnóstico podrán detectar la metilación aberrante de los promotores de estos genes en pacientes con NSCLC en muestras de sangre y esputo ⁽⁴⁷⁾.

La complejidad del genoma está regulada por mecanismos epigenéticos, que proporcionan la base para la diferenciación, el desarrollo y la

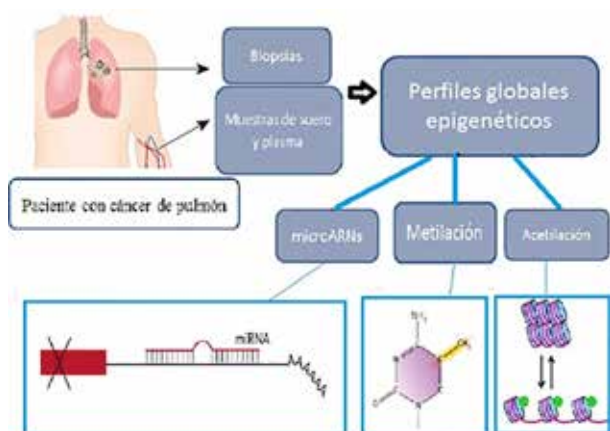


Figura 1. Cambios epigenéticos comúnmente observados en el cáncer de pulmón.

homeostasis celular. La evidencia sugiere que en el cáncer de pulmón aparecen una variedad de cambios epigenéticos que se producen en las primeras etapas de la enfermedad y mutaciones genéticas paralelas. Los cambios de la metilación del ADN, acetilación de histonas, microARNs pueden servir como marcadores de diagnóstico, pronóstico y como blancos terapéuticos para el tratamiento de la enfermedad debido a la reversibilidad de estos cambios epigenéticos que sea posible tratar el cáncer de pulmón con inhibidores de metiltransferasa de ADN e inhibidores de histona desacetilasa.

Conflicto de intereses: ninguno que declarar.
Financiamiento: el autor no recibió patrocinio para realizar este manuscrito.

REFERENCIAS

- Ahuja N, Easwaran H, Baylin SB. Harnessing the potential of epigenetic therapy to target solid tumors. *J Clin Invest*. 2014;124(1):56-63.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011;61(2):69-90.
- Goel A, Boland CR. Epigenetics of colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2012;143(6):1442-1460.
- Koturbash I, Beland FA, Pogribny IP. Role of epigenetic events in chemical carcinogenesis: A justification for incorporating epigenetic evaluations in cancer risk assessment. *Toxicol Mech Methods*. 2011;21(4):289-297.
- Herceg Z, Lambert MP, van Veldhoven K, Demetriou C, Vineis P, Smith MT, et al. Towards incorporating epigenetic mechanisms into carcinogen identification and evaluation. *Carcinogenesis*. 2013;34(9):1955-1967.
- Santini V, Gozzini A, Ferrari G. Histone deacetylase inhibitors: Molecular and biological activity as a premise to clinical application. *Curr Drug Metab*. 2007;8(4):383-393.
- Hassler MR, Egger G. Epigenomics of cancer: Emerging new concepts. *Biochimie*. 2012;94(11):2219-2230.
- You JS, Jones PA. Cancer genetics and epigenetics: Two sides of the same coin? *Cancer Cell*. 2012;22(1):9-20.
- Pogribny IP, Rusyn I. Environmental toxicants, epigenetics, and cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2013;754:215-232.
- Waldmann T, Schneider R. Targeting histone modifications: Epigenetics in cancer. *Curr Opin Cell Biol*. 2013;25(2):184-189.
- Tan SX, Hu RC, Tan YL, Liu JJ, Liu WE. Promoter methylation-mediated downregulation of PRDM5 contributes to the development of lung squamous cell carcinoma. *Tumour Biol*. 2014;35(5):4509-4516.
- Zhu X, He F, Zeng H, Ling S, Chen A, Wang Y, et al. Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia. *Nat Genet*. 2014;46(3):287-293.
- Lokody I. Epigenetics: Histone methyltransferase mutations promote leukemia. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(4):214-215.
- Trimarchi MP, Mouangsavanh M, Huang TH. Cancer epigenetics: A perspective on the role of DNA methylation in acquired endocrine resistance. *Chin J Cancer*. 2011;30(11):749-756.
- Lorincz AT. Cancer diagnostic classifiers based on quantitative DNA methylation. *Expert Rev Mol Diagn*. 2014;14(3):293-305.
- Zhang JG, Guo JF, Liu DL, Liu Q, Wang JJ. MicroRNA-101 exerts tumor suppressive functions in non-small cell lung cancer through directly targeting

- enhancer of zeste homolog 2. *J Thorac Oncol*. 2011;6(4):671-678.
17. Li W, Deng J, Tang JX. Combined effects methylation of FHIT, RASSF1A and RAR β genes on non-small cell lung cancer in the Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(13):5233-5237.
 18. Li W, Deng J, Jiang P, Zeng X, Hu S, Tang J. Methylation of the RASSF1A and RAR β genes as a candidate biomarker for lung cancer. *Exp Ther Med*. 2012;3(6):1067-1071.
 19. Kim JG1, Park MT, Heo K, Yang KM, Yi JM. Epigenetics meets radiation biology as a new approach in cancer treatment. *Int J Mol Sci*. 2013;14(7):15059-15073.
 20. Haroun RA, Zakhary NI, Mohamed MR, Abdelrahman AM, Kandil EI, Shalaby KA. Assessment of the prognostic value of methylation status and expression levels of FHIT, GSTP1 and p16 in non-small cell lung cancer in Egyptian patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(10):4281-4287.
 21. Lee SM, Park JY, Kim DS. Methylation of TMEFF2 gene in tissue and serum DNA from patients with non-small cell lung cancer. *Mol Cells*. 2012;34(2):171-176.
 22. Kim JS, Han J, Shim YM, Park J, Kim DH. Aberrant methylation of H-cadherin (CDH13) promoter is associated with tumor progression in primary non-small cell lung carcinoma. *Cancer*. 2005;104(9):1825-1833.
 23. Sidler C, Woycicki R, Li D, Wang B, Kovalchuk I, Kovalchuk O. A role for SUV39H1-mediated H3K9 trimethylation in the control of genome stability and senescence in WI38 human diploid lung fibroblasts. *Aging (Albany NY)*. 2014;6(7):545-563.
 24. Tang W, Kuruvilla SA, Galitovskiy V, Pan ML, Grando SA, Mukherjee J. Targeting histone deacetylase in lung cancer for early diagnosis: (18)F-FAHA PET/CT imaging of NNK-treated A/J mice model. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;4(4):324-332.
 25. Muraki Y, Banno K, Yanokura M, Kobayashi Y, Kawaguchi M, Nomura H, et al. Epigenetic DNA hypermethylation: Clinical applications in endometrial cancer (Review). *Oncol Rep*. 2009;22(5):967-972.
 26. Rauch T, Pfeifer GP. Methylated-CpG island recovery assay: A new technique for the rapid detection of methylated-CpG islands in cancer. *Lab Invest*. 2005;85(9):1172-1180.
 27. Hua F, Fang N, Li X, Zhu S, Zhang W, Gu J. A mega-analysis of the relationship between RAR β gene promoter methylation and non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2014;9(5):e96163.
 28. Kapitskaya KY, Azhikina TL, Ponomaryova AA, Cherdynseva NV, Vlasov VV, Laktionov PP, et al. MIRA analysis of RAR β 2 gene methylation in DNA circulating in the blood in lung cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(4):516-519.
 29. Hughes LA, Melotte V, de Schrijver J, de Maat M, Smit VT, Bovée JV, et al. The CpG island methylator phenotype: What's in a name? *Cancer Res*. 2013;73(19):5858-5868.
 30. Zhang H, Li X, Ge L, Yang J, Sun J, Niu Q. Methylation of CpG island of p14(ARK), p15(INK4b) and p16(INK4a) genes in coke oven workers. *Hum Exp Toxicol*. 2014;pii: 0960327114533576 [Epub ahead of print].
 31. Yanagawa N, Tamura G, Oizumi H, Kanauchi N, Endoh M, Sadahiro M, et al. T. Promoter hypermethylation of RASSF1A and RUNX3 genes as an independent prognostic prediction marker in surgically resected non-small cell lung cancers. *Lung Cancer*. 2007;58(1):131-138.
 32. Scherf DB, Sarkisyan N, Jacobsson H, Claus R, Bermejo JL, Peil B, et al. Epigenetic screen identifies genotype-specific promoter DNA methylation and oncogenic potential of CHRNA4. *Oncogene*. 2013;32(28):3329-3338.
 33. Yoo SS, Lee SM, Do SK, Lee WK, Kim DS, Park JY. Unmethylation of the CHRNA4 gene is an unfavorable prognostic factor in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2014;86(1):85-90.
 34. Dang X, Ma A, Yang L, Hu H, Zhu B, Shang D, et al. MicroRNA-26a regulates tumorigenic properties of EZH2 in human lung carcinoma cells. *Cancer Genet*. 2012;205(3):113-123.
 35. Zhang X, Xiao D, Wang Z, Zou Y, Huang L, Lin W, et al. MicroRNA-26a/b regulate DNA replication licensing, tumorigenesis and prognosis by targeting CDC6 in lung cancer. *Mol Cancer Res*. 2014;12(11):1535-1546.
 36. Loriot A, Van Tongelen A, Blanco J, Klaessens S, Cannuyer J, van Baren N, et al. A novel cancer-germline transcript carrying pro-metastatic miR-105 and TET-targeting miR-767 induced by DNA hypomethylation in tumors. *Epigenetics*. 2014;9(8):1163-1171.
 37. Zhang Y, Wang R, Song H, Huang G, Yi J, Zheng Y, et al. Methylation of multiple genes as a candidate biomarker in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett*. 2011;303(1):21-28.
 38. Wang R, Wang ZX, Yang JS, Pan X, De W, Chen LB. MicroRNA-451 functions as a tumor suppressor

- in human non-small cell lung cancer by targeting ras-related protein 14 (RAB14). *Oncogene*. 2011;30(23):2644-2658.
39. Liu J, Lu KH, Liu ZL, Sun M, De W, Wang ZX. MicroRNA-100 is a potential molecular marker of non-small cell lung cancer and functions as a tumor suppressor by targeting polo-like kinase 1. *BMC Cancer*. 2012;12:519.
40. Tahara H, Kay MA, Yasui W, Tahara E. MicroRNAs in cancer: The 22nd Hiroshima Cancer Seminar/ the 4th Japanese Association for RNA Interference Joint International Symposium, 30 August 2012, Grand Prince Hotel Hiroshima. *Jpn J Clin Oncol*. 2013;43(5):579-582.
41. Seol HS, Akiyama Y, Shimada S, Lee HJ, Kim TI, Chun SM, et al. Epigenetic silencing of microRNA-373 to epithelial-mesenchymal transition in non-small cell lung cancer through IRAK2 and LAMP1 axes. *Cancer Lett*. 2014;352(2):232-241.
42. Tessema M, Yingling CM, Snider AM, Do K, Juri DE, Picchi MA, et al. GATA2 is epigenetically repressed in human and mouse lung tumors and is not requisite for survival of KRAS mutant lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014;9(6):784-793.
43. Barrow TM, Michels KB. Epigenetic epidemiology of cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;455(1-2):70-83.
44. Ponomaryova AA, Rykova EY, Cherdyntseva NV, Skvortsova TE, Dobrodeev AY, Zav'yalov AA, et al. RAR β 2 gene methylation level in the circulating DNA from blood of patients with lung cancer. *Eur J Cancer Prev*. 2011;20(6):453-455.
45. Kapitskaya KY, Azhikina TL, Ponomaryova AA, Cherdyntseva NV, Vlasov VV, Laktionov PP, et al. MIRA Analysis of RAR β 2 gene methylation in DNA circulating in the blood in lung cancer. *Bull Exp Biol Med*. 2014;157(4):516-519.
46. Hubers AJ, Brinkman P, Boksem RJ, Rhodius RJ, Witte BI, Zwinderman AH, et al. Combined sputum hypermethylation and eNose analysis for lung cancer diagnosis. *J Clin Pathol*. 2014;67(8):707-711.
47. Suzuki M1, Yoshino I. Aberrant methylation in non-small cell lung cancer. *Surg Today*. 2010;40(7):602-607.