

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

EPIGENÉTICA Y CÁNCER

Dr. Francisco E. Gago,* Lic. Diego M. Marzese**

RESUMEN

Con el secuenciado completo del genoma humano se pensó que todas las enfermedades genéticas, como lo es el cáncer, serían explicadas. Hoy vemos que los conocimientos de genética clásica no son suficientes para explicar los diversos fenotipos de una célula normal o patológica. La epigenética es el estudio de los cambios en la expresión de genes que ocurren sin la alteración de la secuencia del ADN. Los cambios epigenéticos comprenden una serie de procesos que incluyen la metilación del ADN o la modificación de las histonas. La metilación del ADN es un proceso fisiológico esencial en el desarrollo embriológico y a lo largo de la vida del organismo, pero un descontrol de la misma se asocia cada día a más patologías.

Palabras clave

Epigenética. Metilación del ADN. Cáncer. Genes supresores de tumor. Cromatina.

SUMMARY

When the whole human genome sequentiation was completed, it was thought that it would explain all genetic diseases, like cancer. Nowadays we realize that classic genetic knowledge is not enough to explain all normal or pathological cell phenotypes. Epigenetic is the study of heritable changes in gene expression that occur without changes in DNA sequence. The epigenetic changes comprise processes like DNA methylation or histones modifications. DNA methylation is a physiological process essential during the embryologic development and during the organisms' life, but the DNA-methylation alteration is being associated with more and more pathologies.

Key words

Epigenetic. DNA methylation. Cancer. Tumor suppressor gene. Chromatin.

Han transcurrido más de 50 años desde que James Watson y Francis Crick,¹ descifraron la estructura del ADN y conocimos el código genético que esta molécula utilizaba para poder pasar la información de una generación a otra. También hemos aprendido que este proceso en-

cierra mecanismos muy complejos que, si bien se continúan descubriendo, cada nuevo descubrimiento despierta un interrogante nuevo.

La genética clásica no puede explicar la diversidad fenotípica dentro de la población; cómo es que después de poseer una idéntica se-

* Profesor Titular de Ginecología, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo.

** Laboratorio de Biología Celular y Molecular, IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Médicas, UNCuyo.
Correo electrónico para el Dr. Francisco E. Gago: edugago@arlinkbbt.com.ar

cuencia de ADN, los mellizos homocigotas,² se observa que uno de ellos posee una diabetes infantil y el otro no; o animales clonados³ pueden tener diferentes fenotipos y diferente sensibilidad a las enfermedades. Esto es explicado por la epigenética o control epigenético, que es aquel control que ejerce algún metabolito o proteína externa a la secuencia del ADN.⁴ El genoma contiene dos tipos de información: genética y epigenética. La información epigenética provee instrucciones de cómo, cuándo y dónde debe ser utilizada la información genética. Son estados de fenotipos alternativos que no se basan en diferencias producidas en el genotipo. La secuencia de un gen no se ve alterada pero la regulación de su expresión ha cambiado. Esta regulación de la expresión se produce por tres mecanismos: 1) patrones de metilación del ADN; 2) cambios en la estructura de la cromatina; y 3) modificación de las histonas.

La metilación de un gen es el agregado de grupos metilos (CH₃) a citocinas que preceden a las guaninas llamadas dinucleótidos (CpG). Los sitios CpG no están uniformemente distribuidos en el genoma, sino que hay regiones ricas en CpG, denominadas islas de CpG, que se hallan generalmente en los promotores de los genes y en los primeros exones.^{5,6} La metilación de un particular subgrupo de promotores de islas CpG puede ser detectada en células normales. La impronta genómica también requiere de la metilación del ADN de uno de los dos alelos paternos de los genes para asegurar la expresión monoalélica, como es la inactivación del cromosoma X en las mujeres.⁷ Cuando las células se dividen, además de heredarse la secuencia de su genoma, se heredan los patrones de metilación.

Las alteraciones en la metilación del ADN se producen por anomalías funcionales de las ADN Metiltransferasas (DNMTs). Las alteraciones pueden ejercer efectos que llegan a alterar la morfología del núcleo.^{8,9}

La metilación del ADN se correlaciona con las modificaciones químicas de las proteínas de

las histonas. Las histonas son proteínas que participan en la regulación de la expresión génica. Ellas almacenan información epigenética a través de modificaciones postranscripcionales, que afectan la transcripción del ADN. Estas histonas poseen un código que regula la actividad del ADN, controlando las condiciones en que los genes deben activarse y cuando deben permanecer en reposo. Descifrar este código nos permite conocer desde procesos normales y fisiológicos, hasta procesos patológicos.¹⁰

Las histonas desempeñan un papel fundamental en el enrollamiento de la cromatina. Se trata de proteínas básicas que poseen una alta proporción de lisinas y argininas; es decir, de aminoácidos cargados positivamente. Ello contribuye a la unión de las histonas con las moléculas de ADN, en las que predomina carga negativa. Anteriormente se consideraba que las cromatina era una estructura inerte que sólo servía para compactar el ADN dentro de la célula. Pero numerosos trabajos han demostrado que la cromatina juega un rol muy importante en el control de la actividad génica. En algunos sectores la cromatina posee un grado de enrollamiento mayor denominándose heterocromatina, y se reserva el nombre de eucromatina para la menos condensada. La cromatina menos compactada es la que posee al ADN transcripcionalmente activo; o sea, el que sintetiza moléculas de ARN. El descubrimiento de la acetilación de la histona por la histona acetiltransferasa (HAT) y la desacetilación por la histona desacetilasa (HDAC), han permitido establecer que estas enzimas hacen que la cromatina sea eucromatina o heterocromatina, respectivamente.¹¹

En los tumores se ha hallado un bajo nivel de metilación con respecto a las células normales y fue una de las primeras alteraciones epigenéticas halladas en los tumores humanos.¹² Durante el desarrollo de una neoplasia, el grado de metilación del ADN va disminuyendo con el progreso del tumor, desde una lesión benigna a una invasora.¹³

Tres mecanismos han sido propuestos para explicar la contribución de la hipometilación del ADN para el desarrollo del cáncer: la generación de inestabilidad cromosómica; la reactivación de elementos transponibles y protooncogenes; y la pérdida de la impronta genómica.¹⁴

La inactivación de genes supresores tumorales (GST) producida por la hipermetilación de islas de CpG en las regiones promotoras de estos genes supresores tumorales, es el evento más importante que origina la mayoría de los cánceres. El primer reporte de hipermetilación de islas de CpG fue en la región promotora del gen supresor del tumor del retinoblastoma,¹⁵ fue seguido por el hallazgo de hipermetilación de islas de CpG de genes supresores tumorales como el VHL (asociado con la enfermedad de von Hippel-Lindau),¹⁶ el p16,¹⁷ y el BRCA 1.¹⁸

La hipermetilación de islas de CpG de regiones promotoras puede afectar genes involucrados con el ciclo celular, con la reparación del ADN, el mecanismo carcinogénico, la interacción entre las células, la apoptosis y la angiogénesis. La hipermetilación ocurre en diferentes estados del desarrollo del cáncer y en diferentes redes celulares e interactúa potenciándose con lesiones genéticas.⁵ El perfil de hipermetilación de las islas de CpG es específico para cada tipo de cáncer,¹⁹ y todo tumor puede tener una metilación específica denominada hipermetiloma del ADN. Todavía no se sabe cómo la hipermetilación comienza en algunos tipos de cáncer pero no en otros.

La metilación de genes supresores tumorales provoca un descontrol del ciclo celular y la metilación de genes inhibidores de metástasis facilita el escape de la célula tumoral.²⁰ La consecuencia de esta metilación alterada tiene un efecto patológico comparable al que produce una mutación en la secuencia codificante del gen.²¹ Se ha propuesto que la metilación de los GST es progresiva a lo largo del proceso tumoral,²² detectándose incluso una mayor presencia de GST metilados en líneas celulares.²³

La consecuencia de la metilación del ADN es la modificación de las histonas en las células tumorales, ocurriendo en las diferentes proteínas de las mismas. Estas variantes también involucran diferentes grupos químicos como metilos, acetilos y fosfatos, en diferentes grados.

La metilación del ADN y la modificación de los patrones de histona asociados con el desarrollo y progresión del cáncer, tienen un potencial uso clínico. Existe evidencia sobre la circulación de células tumorales y/o ADN libre en el suero de pacientes con cáncer, liberados desde el tumor en estadios tempranos.^{24,25} Esto sugiere que sería posible el diagnóstico precoz del tumor, utilizando métodos no invasivos que permitieran detectar en suero un ADN característico del inicio de la tumorigénesis. El perfil de metilación aberrante podría ser una característica específica del tumor para detectar células tumorales. Por ejemplo, el gen de la glutatión S transferasa (GSTP1) está hipermetilado en un 80% a 90% de pacientes con cáncer de próstata, pero no lo está en las hiperplasias prostáticas, por lo cual la detección de la metilación de la GSTP1 permitiría distinguir entre cáncer de próstata y procesos benignos, y su detección se puede hacer en la orina.²⁶

En cáncer de mama se ha observado hipermetilación en los principales genes asociado con este cáncer, habiendo significativas diferencias epigenéticas en carcinomas con receptores de estrógeno positivo y HER-2 positivo, que explicaría el porqué de la resistencia terapéutica a la hormonoterapia,²⁷ en estas pacientes.

También ha sido analizada la metilación del gen PITX2 y se ha observado en pacientes con receptores de estrógeno positivo y ganglios negativos, que han sido tratadas con hormonoterapia, una mejor sobrevida libre de enfermedad en las pacientes que poseían bajos niveles de metilación, siendo un factor de pronóstico independiente.²⁸

Se está desarrollando un dendograma pronóstico similar al usado para el perfil génico del

tumor por *microarray*, con la utilización de una combinación de marcadores de hipermetilación a islas de CpG por *microarray*; el perfil epigenético sería un complemento del perfil génico.

Diferentes metilaciones del ADN y modificaciones de las histonas, son procesos que pueden ser reversibles. Alteraciones epigenéticas permiten que las células tumorales se adapten a su medio ambiente, pero genes supresores tumorales latentes, hipermetilados pueden ser despertados con drogas. Esto se demuestra por la reexpresión de genes con ADN metilados en líneas celulares de cáncer por el uso de agentes desmetilantes y se rescata la funcionalidad del gen supresor. Drogas demetilantes del ADN en bajas dosis tienen actividad clínica contra algunos tumores. Dos de estos agentes son la 5-azacytidine (Vidaza) y la 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine) que han sido aprobadas para el tratamiento del síndrome mielodisplásico y las leucemias.²⁹

Consideramos que recién estamos en los albores de esta nueva parte de la ciencia que es la epigenética, que incluso puede modificar el dogma de la biología molecular. La epigenética nos permitirá saber cuál de los genes que presenta un tumor están verdaderamente activados y cuáles silenciados, teniendo por ende una gran repercusión en el diagnóstico, tratamiento, seguimiento y pronóstico, del cáncer.

REFERENCIAS

1. Watson JD, Crick FH. A structure for deoxyribose nucleic acids. *Nature* 1953; 171: 737-738.
2. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, et al. Epigenetic differences arise during de life -time of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 10604-9.
3. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science* 2001; 293: 95-97.
4. Holliday R. The inheritance of epigenetic defects. *Science* 1987; 238: 163-70.
5. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promote hypermethylation. *N Eng J Med* 2003; 349: 2042-54.
6. Weber M, Hellmann I, Stadler MB, et al. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet* 2007; 39: 457-66.
7. Reik W, Lewis A. Co-evolution of X-chromosome inactivation and imprinting in mammals. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 403-10.
8. Xu GL, Bestor TH, et al. Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in a DNA methyltransferase gene. *Nature* 1999; 402: 187-91.
9. Espada J, Ballester E, Santoro R, et al. Epigenetic disruption of ribosomal RNA genes and nucleolar architecture in DNA methyltransferase 1 (Dnmt1) deficient cells. *Nucleic Acids Res* 2007; 35: 2191-8.
10. Jenuwein T, Allis CD. Translating the Histone code. *Science* 2001; 293: 1074-80.
11. Ballestar E, Esteller M. *Carcinogénesis* 2002; 23: 1109-2002.
12. Feimberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguished genes of some humans cancers from their normal counterpart. *Nature* 1983; 301: 89-92.
13. Fraga MF, Herranz M, Espada J, et al. A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. *Cancer Res* 2004; 64: 5527-34.
14. Eden A, Gaudet F, Whagmare A, et al. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science* 2003; 300: 455-59.
15. Sakai T, Togushida J, Ohtani N, et al. Allele specific hypermethylation of the retinoblastoma tumor-suppressor gene. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 880-88.
16. Herman JG, Latif F, Weng Y, et al. Silencing of the VHL tumor suppressor gen by DNA methylation in renal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9700-4.
17. Gonzalez Zulueta M, Bender CM, Yang AS, et al. Methylation of de 5' CpG island of the p16 /CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissue correlates with gene silencing. *Cancer Res* 1995; 55: 4531-35.
18. Esteller M, Silva JM, Dominguez G, et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 564-69.
19. Costello JF, Frühwald MC, Smiraglia DJ, et al. Aberrant CpG island methylation has non random and tumor type-specific patterns. *Nat Genet* 2000; 24: 132-38.
20. Mehrotra J, Vali M, McVeigh M, et al. Very high frequency of hypermethylated genes in breast cancer metastasis to the bone, brain, and lung. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3104-3109.
21. Dammann R, Takahashi T and Pfeifer G. The CpG

- island of the noel tumor suppressor gene RASSF1A is intensely methylated in primary small cell lung carcinomas. *Oncogene* 2001; 20: 3563-3567.
22. Jones PA, Laird PW. (1999) Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21: 163-167.
 23. Paz M, Fraga M, Avila S, Guo M, Pollan M, Herman J, Esteller M. (2003) A systematic profile of DNA methylation in human cancer cell lines. *Cancer Res* 2003; 63: 1114-1121.
 24. Cristofanilli M, Budd T, Matthew J, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 781-91.
 25. Windschwendter A, Müller H, Fiegl H, et al. DNA methylation in serum and tumors of cervical cancer patients. *Clin Cancer Res* 2004;10: 565-571.
 26. Hoque MO, Topaloglu O, Begun S, et al. Quantitative methylation specific polymerase chain reaction gene patterns in urine sediments distinguish prostate cancer patients from control subjects. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6569-75.
 27. Sunami E, Shinozaki M, Shin-Sim M, et al. Estrogen receptor and HER/2 neu status affect epigenetic differences of tumor -related genes in primary breast cancer. *Breast Cancer Res* 2008; 10: R46.
 28. Harbeck N, Nimmrich I, Hartmann A, et al. Multicenter study using paraffin-embedded tumor tissue testing PITX2 DNA methylation as a marker for outcome prediction in tamoxifen treated, node negative breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2008; 26: 1-5.
 29. Oki Y, Aoki E, Issa JP, et al. Decitabine bedside to bench. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61: 140-52.