



REVISIÓN

Biomarcadores en cáncer. Contribución de la epigenética a la medicina personalizada



Olga Pernía^{a,b,*}, Olga Vera^{a,b} e Inmaculada Ibáñez de Cáceres^{a,b,*}

^a Laboratorio de Epigenética del Cáncer, Instituto de Genética Médica y Molecular, Hospital La Paz, Madrid España

^b Terapias Experimentales y Nuevos Biomarcadores en Cáncer IdiPAZ, Hospital La Paz, Madrid, España

Recibido el 8 de abril de 2014; aceptado el 15 de abril de 2014

Disponible en Internet el 18 de junio de 2014

PALABRAS CLAVE

Epigenética;
Cáncer;
Medicina
personalizada;
Biomarcadores

Resumen En el contexto de la medicina personalizada, la epigenética cobra importancia como base de prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de enfermedades como el cáncer. De los distintos procesos de control epigenético, el silenciamiento génico por metilación del ADN es el más frecuente en esta patología y aporta aplicaciones clínicas muy variadas como predicción de respuesta terapéutica, pronóstico asociada a las características moleculares del tumor y el seguimiento de pacientes tras la intervención quirúrgica o el tratamiento con quimioterapia. Una de las principales ventajas clínicas de estas alteraciones epigenéticas es que pueden revertirse mediante tratamientos farmacológicos, aunque se asocien con múltiples efectos secundarios. Es por ello de gran importancia continuar con el estudio de la regulación epigenética en cáncer, complementado con la biología de sistemas, lo que aportaría conocimiento sobre la implicación biológica real de estos biomarcadores, y la identificación de fármacos específicos que disminuyan estos efectos adversos y nos acerquen a la realidad de una medicina personalizada.

© 2014 AEEM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Epigenetics;
Cancer;
Personalised
medicine;
Biomarkers

Biomarkers in cancer. contribution of epigenetics in personalised medicine

Abstract In the context of personalised medicine, epigenetics has an important role as regards the prevention, diagnosis, prognosis, and treatment of diseases such as cancer. Of the different epigenetic control processes, gene silencing by DNA methylation is most frequent in this disease, and contributes to a wide variety of clinical applications such as, prediction of the therapeutic response, the prognosis associated with the molecular characteristics of the tumour, and the follow-up of patients after treatment by surgery or chemotherapy. One of the main advantages of these epigenetic alterations is that they can be reversed with pharmacological treatments, although they are associated with multiple side effects. It for this reason, it

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: inma.ibanezca@salud.madrid.org (I. Ibáñez de Cáceres).

is of great importance to continue studying epigenetic regulation in cancer, complementing with biological systems, as well as the identification of specific drugs that may decrease these adverse effects, and which should help to determine the real biological implications of these biomarkers and may lead to achieving personalised medicine.

© 2014 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El Instituto Nacional de Cáncer en Estados Unidos define la medicina personalizada como una forma de medicina que utiliza la información acerca de los genes y proteínas de un individuo y el ambiente que la rodea para prevenir, diagnosticar y tratar una enfermedad. La medicina personalizada utiliza conceptos tradicionales y conceptos emergentes sobre las bases genéticas de una enfermedad para individualizar la prevención, diagnóstico y tratamiento. Los resultados de multitud de proyectos de investigación sobre la relación entre los cambios genéticos y epigenéticos, así como en las rutas de señalización inducidas por los fármacos y aquellos presentes en tumores de los pacientes, han sido esenciales en la determinación de algunos marcadores de interés que han permitido administrar el mejor tratamiento oncológico para cada paciente.

Las aplicaciones de la genética y la epigenética en la medicina personalizada incluyen áreas básicas de la medicina como son la prevención, diagnóstico, pronosis y tratamiento (tabla 1). El trayecto que va desde un concepto hasta la aplicación clínica en cada una de estas áreas involucra investigación básica, traslacional, clínica y también aspectos regulatorios¹. En el estudio de la relevancia de las terapias personalizadas en el tratamiento del cáncer y el impacto de estas nuevas alternativas terapéuticas hay que tener en cuenta, por una parte el valor que puede representar para el paciente en términos de sufrimiento (efectos secundarios, faltas de respuesta), para el sistema nacional de salud en términos de coste farmacéutico (terapias tradicionales vs. personalizadas que incluyen análisis genéticos, etc.) y por último el coste social y personal que implican las horas de trabajo no ejercido, horas de ocio no disfrutado, tiempo y dedicación de los familiares en el cuidado del paciente, etc.

Aporte de la epigenómica

Epigenómica

Los procesos epigenéticos tienen un papel fundamental en fenómenos fisiológicos como la embriogénesis, la impronta y la inactivación del cromosoma X, pero también en el desarrollo de enfermedades, entre ellas el cáncer. En esta última década, se han establecido los diferentes niveles mecanísticos que participan en la regulación epigenética, entre los que se incluyen la metilación del ADN, la modificación postraduccional de histonas y los micro ARN regulatorios de

la expresión génica². De todos estos mecanismos, el mejor conocido es la metilación del ADN.

Metilación y cáncer

La primera vez que se demostró una relación entre la metilación del ADN y el cáncer fue en 1983, cuando se observó que las células tumorales tenían un grado de metilación menor que las células originales no tumorales. Este fenómeno está relacionado con una pérdida de metilación en las regiones repetitivas del genoma provocando inestabilidad cromosómica en estas células tumorales. Sin embargo el principal evento que está involucrado en el origen de un gran número de cánceres es la hipermetilación de islas CpG en los promotores de genes supresores de tumores (GST)³. Estos genes pueden mediar diferentes funciones celulares implicadas en el desarrollo del cáncer, como son la regulación del ciclo celular, la reparación del ADN, la interacción célula-célula, la apoptosis y la angiogénesis⁴.

Hoy en día, no hay duda de que alteraciones en la metilación del ADN tienen un papel importante en la tumorigénesis. Una metilación aberrante de las islas CpG de genes específicos, es un mecanismo epigenético tan común como las mutaciones puntuales o pérdidas de heterocigosidad (LOH) que causan el silenciamiento de los GST en cánceres humanos. Entre los diferentes genes alterados por la metilación en diversos tipos tumorales encontramos, *RASSF1*, *BRCA1*, *GSTP1*, *CDKN2A*, *CDH13*, *MLH1*, *VHL*, *APC*, *MGMT*, *DAPK*, *IGFBP-3* o *TIMP3* entre otros (tabla 2).

ADN metilado como biomarcador

La contribución de la epigenética al estudio del cáncer es evidente, ya que la metilación aberrante de determinados genes ocurre muy temprano en la carcinogénesis, incluso cuando las muestras quirúrgicas son histológicamente negativas⁵. Los marcadores para ADN metilado son por tanto indicadores perfectos para la enfermedad ya establecida.

Además, debido a lo ubicuo que es el ADN hipermetilado y gracias a las nuevas tecnologías, capaces de detectar cambios de metilación en el ADN en diversos fluidos biológicos, hacen que este área de estudio se considere una de las grandes promesas no solo para la detección del cáncer, sino como fuente de identificación de biomarcadores para pronosis e incluso predicción de respuesta a fármacos. La epigenética proporciona gran flexibilidad biológica a la célula tumoral, sin embargo estas características pueden ser

Tabla 1 Biomarcadores genéticos/epigenéticos de uso clínico

Nombre	Aplicación clínica	Tipo tumoral	Resultado
<i>BluePrint</i> ®	Predictivo	Mama	Diversas terapias individuales
<i>BRCA1/2</i>	Predictivo/pronóstico	Mama	Medida de riesgo presintomático
<i>BRAF</i>	Predictivo/pronóstico	Melanoma	Inhibidores de RAF
<i>EGFR</i>	Predictivo	Pulmón (CPNM)	Inhibidores tirosina quinasa (TKI) para EGFR
<i>K-RAS</i>	Pronóstico	Colorrectal	Elección de uso de cetuximab
<i>MammaPrint</i> ®	Pronóstico	Mama	Estadio y agresividad del tumor
<i>Therascreen</i>	Predictivo	Glioblastoma	Decisión clínica sobre agentes alquilantes
<i>MGMT PyroKit</i> ®			
<i>OncoTypDX</i>	Predictivo/pronóstico	Mama, ER+, HER2- y colon	Quimioterapia sí/no
<i>VeriStrat</i> ®	Pronóstico	Pulmón con bevacizumab y erlotinib en primera línea	Decisión clínica sobre TKIs para EGFR

modificadas farmacológicamente gracias al uso de agentes desmetilantes e inhibidores de acetilasas de histonas. Esta posibilidad nos permite identificar dianas terapéuticas con uso potencial en clínica, ya que existen en la actualidad cuatro fármacos distintos aprobados con estas características, de los que hablaremos más adelante.

Las características que han de tener las secuencias de ADN metilado para poder ser consideradas biomarcadores clínicos se han definido conjuntamente por el National Cancer Institute's y el Early Detection Research Network⁶.

La mayoría de los marcadores epigenéticos se han identificado mediante aproximaciones puntuales a genes candidatos; sin embargo en los últimos años, han surgido numerosos estudios combinando arrays de expresión con

tratamientos epigenéticos de reactivación de la expresión génica. Estos estudios permiten identificar nuevos genes bajo regulación epigenética con significado en progresión tumoral, que pudieran eventualmente comportarse como biomarcadores en diferentes tipos tumorales como el de vejiga, colorrectal esofágico, renal o pulmón⁷. Recientemente se han sumado a estas aproximaciones otros estudios apoyados en técnicas de secuenciación masiva del genoma completo, combinada con perfiles de expresión diferencial, que se han enfocado en tumores de origen epitelial, identificando marcadores que pudieran iluminar las rutas moleculares involucradas en tumorigénesis. De los diferentes estudios realizados podemos resaltar los siguientes candidatos: *BCN1*, *MSX1*, *CCNA1*, *ALDH1A3*, genes cuya

Tabla 2 Genes supresores tumorales bajo regulación epigenética en diferentes tipos tumorales

Gen	Función	Tipos tumorales
<i>APC</i>	Regulación negativa del ciclo celular	esófago, renal, mama, pulmón, colon y otros
<i>ATM</i>	Respuesta a daño en el ADN	linfoma, leucemia
<i>BRCA1</i>	Regulación negativa del ciclo celular	mama, ovario
<i>CDH1</i>	Adhesión celular	gástrico, endometrio, vejiga
<i>CDH13</i>	Adhesión celular	mama, ovario, pulmón
<i>CHFR</i>	Regulación mitótica	Gástrico, Colon
<i>DAPK1</i>	Apoptosis	Pulmón, cervix, próstata, mama, esófago y otros
<i>ESR1</i>	Receptor de estrógenos	Prostate, ovario
<i>FHIT</i>	Regulación de ciclo celular	esófago, gástrico, colon, pulmón
<i>GSTP1</i>	Transformación de sustancias electrofílicas	Prostate, gástrico, hígado
<i>HIC1</i>	Factor de Transcripción	mama, pulmón, liver, medulloblastoma
<i>hMLH1</i>	Reparación del ADN	Colorectal, endometrio, astrocitoma
<i>IGFBP3</i>	Señalización de factores de crecimiento	Pulmón, renal, próstata, ovario, gástrico, hígado
<i>MGMT</i>	Reparación de guaninas metiladas	pulmón, colon, cabeza y cuello
<i>p14NK4a</i>	Regulación del ciclo celular	Colon, astrocitoma, mama
<i>p15NK4a</i>	Regulación del ciclo celular	Leucemia, linfoma, vejiga
<i>p16NK4a</i>	Regulación del ciclo celular	pulmón, renal, colorectal
<i>RARBeta</i>	Regulación del crecimiento y ciclo celular	próstata, vejiga, mama, pulmón
<i>RASSF1A</i>	Homólogo de RASS	renal, mama
<i>SOC32</i>	Supresor de citoquinas	ovario, mama, melanoma
<i>TIG1</i>	Regulación negativa del proliferation celular	próstata, digestivo
<i>VHL</i>	Regulación negativa del ciclo celular	renal

expresión está bajo regulación epigenética, y que han sido validados en más de cien muestras quirúrgicas procedentes de diferentes tipos tumorales como mama, colon, próstata y pulmón. Estos resultados indicarían que diversos tipos tumorales de origen epitelial pueden compartir alteraciones en las mismas rutas celulares. Actualmente se argumenta que los patrones de ADN metilado podrían estratificar el cáncer de pulmón no microcítico en dos subtipos fenotípicamente diferentes capaces de predecir respuesta a inhibidores de la ruta del *EGFR*⁸.

Por otra parte, la eficacia de un ensayo con biomarcadores viene determinada por su sensibilidad y especificidad. Para un ensayo con biomarcadores de hipermetilación del ADN, la sensibilidad se describe como la cantidad mínima de ADN metilado (diana) capaz de ser detectada por el ensayo. En términos clínicos, se describe como la proporción de pacientes con enfermedad confirmada, para los cuales el test con el biomarcador resulta positivo; mientras que la especificidad del ensayo viene determinada por la proporción de sujetos controles para los que el test resulta negativo. La sensibilidad óptima se alcanza cuando el número de falsos negativos se aproxima a cero. Por otra parte, la especificidad es alta cuando el número de falsos positivos es bajo.

Actualmente, la sensibilidad en cuanto a la detección de los biomarcadores de metilación de ADN recae principalmente en las técnicas de PCR de metilación específica (MSP) o en la versión cuantitativa de esta técnica (qMSP), junto con el origen y la calidad del ADN de la muestra de partida. La orina o la saliva, parecen ser los fluidos biológicos que proporcionan mayor sensibilidad clínica para detectar cánceres de vejiga y de pulmón respectivamente; sin embargo, son el suero y el plasma las fuentes que mejores datos proporcionan en cuanto a la especificidad tumoral. Desafortunadamente, surge un problema inherente asociado a la alta sensibilidad que proporcionan estos biomarcadores de ADN metilado, y es que esta es mayor que la que actualmente proporcionan los métodos diagnósticos por lo que se podrían tener casos de falsos positivos. Por lo que si un caso clínico es detectado por un marcador de metilación de alta sensibilidad, antes que por cualquier otra tecnología existente, lo más frecuente es que este caso sea clasificado como un falso positivo, restándole futura aplicabilidad al biomarcador identificado.

Modificación de histonas y cáncer

Las modificaciones de histonas consisten en reacciones covalentes que afectan a sus regiones amino-terminales. Estas modificaciones incluyen la acetilación, la metilación, la fosforilación, la ubiquitinación, la sumoilación, y la ADP-ribosilación y pueden tener efectos directos sobre diferentes procesos nucleares, incluyendo la transcripción génica, la reparación y replicación del ADN y la organización de cromosomas. Las enzimas que catalizan estas reacciones son las histonas acetiltransferasas (HAT), las desacetilasas de histonas (HDAC), las histonas metiltransferasas (HMT) y las histonas desmetilasas (HDMT). Estas pueden funcionar como activadores o represores transcripcionales dependiendo del residuo sobre el que actúen. Generalmente la acetilación de histonas está asociada con la activación

transcripcional, en cambio la metilación de histonas depende del tipo de aminoácido que se metile y de su posición. En cáncer, la modificación más común de histonas es la reducción en la acetilación de la lisina 16 de la histona H4⁹, reacción mediada por las HDAC, que se encuentran sobreexpresadas o mutadas en diferentes tipos tumorales^{10,11}. Además en algunos tipos de cáncer (colon, útero, pulmón y leucemia) se han observado translocaciones que dan lugar a la formación de proteínas aberrantes, mutaciones o deleciones de *HAT* y de genes relacionados, contribuyendo a una acetilación aberrante de histonas¹². Las modificaciones postranscripcionales de histonas están íntimamente relacionadas con metilación y participan en la regulación de la expresión génica, mostrando un valor pronóstico y predictivo en muchos tipos de cáncer, entre los que se encuentra el cáncer de pulmón y ovario. En los últimos años se ha visto como estas modificaciones pueden contribuir a la tumorigénesis y se ha comprobado la existencia de un patrón de expresión alterado de enzimas modificadoras de histonas en los tumores humanos.

miARN y cáncer

El control epigenético más recientemente descubierto es la regulación génica postranscripcional mediada por miARN¹³. Esta regulación se lleva a cabo gracias a la unión por complementariedad de secuencias del miARN a la región 3'UTR de sus ARNm diana, provocando la degradación de dicho ARNm o inhibiendo la traducción proteica. Existen más de 1.000 miARN maduros en el genoma humano (*mirbase.org*), cada uno de los cuales presenta múltiples transcritos diana. La especificidad entre miARN y ARNm diana viene determinada por la complementariedad de secuencia entre ambas moléculas. Un solo miARN puede tener como diana cientos de ARN mensajeros que pueden estar implicados en numerosos procesos biológicos incluidos diferenciación, ciclo celular, y apoptosis¹⁴. A su vez, un ARNm puede ser diana de distintos miARN. Por lo tanto, la capacidad de alterar la expresión en una célula que posee un solo miARN depende tanto de su propia concentración como de la concentración de sus ARNm diana, y pequeños cambios en la expresión de un miARN puede tener efectos importantes sobre el fenotipo, puesto que puede influir simultáneamente en la expresión de cientos de genes.

La primera evidencia de la correlación entre cáncer y miARN apareció en el año 2002 cuando se observó que el miR-15a y el miR16-1 estaban codificados por una región frecuentemente deletada del cromosoma 13, en leucemia linfocítica crónica de células B. Actualmente se conocen miARN que se expresan de forma aberrante o que están mutados en una gran variedad de tumores, lo cual sugiere su implicación en iniciación y progresión del cáncer, además estos tienen una función dual, ya que pueden actuar como oncogenes o genes supresores de tumores en función de sus ARNm diana.

Las alteraciones en la expresión de los miARN se han estudiado en diversos tipos tumorales como en cáncer de pulmón¹⁵ y ovario¹⁴, permitiendo distinguir entre subtipos celulares. Los miARN no solo sirven para perfilar distintos tipos tumorales, sino que también pueden servir para predecir respuesta a fármacos. Se ha comprobado que en tumores

de ovario aparecen regulados negativamente el miR-100 y miR-214, habiéndose demostrado que este último tiene como diana al gen supresor tumoral *PTEN* asociado con la resistencia a platino¹⁶. También se ha descrito el papel de determinados miARN, como el miR-34c, como posibles biomarcadores de riesgo en estudios de quimio-prevención en cáncer de pulmón¹⁷. Es necesario remarcar que la expresión de los miARN puede estar regulada epigenéticamente a través de la metilación de islas CpG localizadas en regiones reguladoras de la expresión del miARN, pero a su vez, los miARN pueden actuar regulando la maquinaria epigenética. Por ejemplo, en CNMP se encuentra disminuida la expresión de la familia miR-29, que tiene como diana el ARNm de las metiltransferasas DNMT3A y -3B. Cuando se restablecen los valores normales de estos miR-29s se obtienen unos patrones normales de metilación de ADN, inhibiendo en parte la tumorigenicidad celular.

Aplicaciones clínicas

Detección y estratificación del cáncer

Entre las aplicaciones clínicas de los marcadores de metilación se incluyen la predicción de respuesta terapéutica (marcadores predictivos), la capacidad pronóstica, asociada con las características intrínsecas de cada tumor (marcadores pronósticos) y la monitorización de pacientes para identificar la presencia de recidivas de la enfermedad tras intervención quirúrgica, o tras tratamiento con quimioterapia para evaluar su efectividad, especialmente si se ha definido el biomarcador de antemano por biopsia.

Se han descrito unos 30 GST regulados epigenéticamente, aunque pocos de ellos son específicos para un tipo tumoral en concreto, por ejemplo, *DAPK* y *p16* son posibles marcadores pronósticos de fenotipos más agresivos en cáncer de pulmón, colorrectal y tumores cerebrales; mientras que *VHL* por ejemplo parece específico de carcinoma de células renales y *BRCA1* de cáncer de mama y de ovario. Sin embargo, algunos genes muestran diferentes grados de metilación según el tipo tumoral: *GSTP1* está metilado en un 90% de cáncer de próstata, 30% de cáncer de mama y 25% de cáncer hepático. Esta última característica de algunos marcadores de metilación ha permitido a los científicos desarrollar paneles de metilación con GST diferentes, cubriendo en la mayoría de los casos la detección del 100% de las muestras tumorales; por ejemplo, para la detección precoz del cáncer de mama se han testado diferentes paneles de metilación en muestras con diferente origen como aspirado de mama, lavado ductal o suero. Evron et al¹⁸, compararon la metilación de los promotores de *ciclina D2*, *Twist* y *RAR-β* utilizando células procedentes de lavado ductal. Estos investigadores encontraron metilación anormal en las células de algunas mujeres sanas, que luego desarrollaron cáncer de mama, proporcionando una evidencia directa del uso de los marcadores de metilación para la detección del cáncer en individuos asintomáticos. El cáncer de mama también se ha podido identificar a través del análisis de los genes *RASSF1A*, *APC*, *DAPK*, *GSTP1*, *beta RAR*, *p16* y *p14* en muestras de suero y aspirado de mama. También se han descrito diferentes aproximaciones para la detección molecular de cáncer de ovario. El estado de hipermetilación de los genes *BRCA1* y *RASFF1A* se ha valorado en 50 pacientes con cáncer de

ovario o con tumores primarios peritoneales. La hipermetilación de uno o ambos genes se encontró en un 68% del ADN tumoral. Un examen adicional de uno o más de los siguientes GST; *APC*, *p14*, *ARF*, *p16* y *DAPK* completó el 100% de cobertura, encontrándose un patrón idéntico de hipermetilación del gen en el ADN de origen sérico (82% de sensibilidad), incluyendo estadios de enfermedad I y II¹⁹.

La alteración epigenética más común en el cáncer de próstata es la pérdida de la expresión del gen *GSTP1* asociada a la presencia de hipermetilación en su promotor. Esta puede valorarse en orina, pudiendo discriminar entre diferentes grados de malignidad tumoral²⁰. También se ha descrito la correlación entre metilación del gen *RARβ* y discriminación entre tejido neoplásico o no neoplásico.

Uno de los problemas asociados al cáncer de pulmón es el fracaso en su diagnóstico temprano. Sin embargo, el material biológico presente en esputo o en aspirado bronquial permite nuevas aproximaciones diagnósticas. Los genes *APC*, *p16* y *RARβ* están frecuentemente metilados en este tipo tumoral, lo que ha hecho que se diseñen diferentes ensayos utilizando la técnica de MSP para diagnóstico temprano en pacientes con este tipo tumoral. Por ejemplo, la metilación aberrante en los genes *p16* y *MGMT* en el ADN de esputo se identificó en un 100% de los pacientes con carcinoma de pulmón de células escamosas hasta 3 años antes de su diagnóstico clínico. Por otra parte, el descenso en la expresión del gen *IGFBP3*, mediada por la metilación de su promotor es un evento temprano en la carcinogénesis de pulmón. Más recientemente se ha descrito que la metilación de este gen, no solo sirve para detección temprana de cáncer de pulmón, sino que también es un marcador de respuesta terapéutica al agente CDDP⁷.

La alteración epigenética más común en gliomas afecta a la enzima O⁶-metilguanina-ADN metiltransferasa *MGMT*, esta actúa eliminando el grupo metilo añadido a la posición O⁶ de las guaninas del ADN. Se ha descrito que la metilación de las islas CpG localizadas en la zona del promotor de este gen reprime la expresión génica; en el caso de los gliomas malignos, el promotor de *MGMT* está metilado en un 40-68% de los casos por lo que gana eficacia en tratamiento quimioterápico basado en agentes alquilantes y metilantes²¹.

La ventaja clínica que tiene la pérdida de la expresión génica por metilación del ADN es, en contraste con las mutaciones genéticas, la posibilidad de revertir el estado de metilación mediante tratamiento farmacológico con inhibidores de la desacetilación de histonas y agentes desmetilantes. En la actualidad hay cuatro medicamentos aprobados por la FDA con acción epigenética: los inhibidores de la ADN metiltransferasa 5-azacitidina (Vidaza) y decitabina (2-desoxi-5-azacitidina, Dacogen) y los inhibidores de acetilasas de histonas (HDAC), ácido hidroxámicosuberoilánilida (SAHA, Zolinza) y romidepsina (Istodax). Varios fármacos adicionales desmetilantes e inhibidores de HDAC se están evaluando en estudios preclínicos y en ensayos clínicos. Sin embargo, no hay en la actualidad ningún ensayo clínico con fármacos candidatos dirigidos contra otros objetivos epigenéticos.

Tanto 5-azacitidina como decitabina han demostrado un beneficio clínico significativo en el tratamiento del síndrome mielodisplásico y en leucemia mieloide. Aunque se haya confirmado por varios estudios que se produce una desmetilación en los pacientes tratados, sin embargo, aún

no se ha podido demostrar una relación directa entre la desmetilación del ADN y la respuesta clínica, ya que no hay establecidos biomarcadores de metilación del ADN que predigan con precisión las respuestas del paciente²². Este hecho tan relevante tiene abiertos muchos frentes de estudio en busca de biomarcadores para establecer la prueba de concepto que falta con la terapia epigenética de estos fármacos.

Los fármacos epigenéticos más utilizados en la clínica son 5-azacitidina y decitabina. La incorporación de las bases de azacitosina en el ADN y ARN induce la formación de aductos covalentes con las metiltransferasas, resultando en la depleción de las DNMT, y en la consecuente reducción global de la metilación del ADN. Este descenso en los niveles globales de metilación tiene efectos antitumorales según se ha descrito en diferentes modelos murinos. En general se supone que el beneficio terapéutico de la desmetilación global del ADN está relacionado con la desmetilación y la reactivación de los genes aberrantemente silenciados. Sin embargo, como veremos más adelante, la desmetilación global no es selectiva de los marcadores tumorales que se encuentran metilados en cáncer, efecto que podría restringir severamente la especificidad de la terapia con estos fármacos.

Los inhibidores de HDAC, SAHA y romidepsina se han aprobado para el tratamiento de linfoma cutáneo de células T²³. En la actualidad hay numerosos inhibidores de HDAC que se están testando en diferentes ensayos clínicos, debido a la gran farmacabilidad de la familia de enzimas HDAC, que permite el desarrollo de potentes inhibidores específicos. Es importante resaltar que la desacetilación de histonas interactúa sinérgicamente con la metilación del ADN en el silenciamiento epigenético en cáncer, por lo que se han justificado diferentes ensayos clínicos combinando inhibidores de HDAC y DNMT. Sin embargo, los estudios no han revelado efectos clínicos sinérgicos, que podrían estar relacionados con la complejidad de los modos de acción de los fármacos que aún no se han dilucidado. Por una parte, cada vez está más claro que la actividad enzimática de HDAC no está restringida a las proteínas histonas, ya que el tratamiento de líneas celulares de cáncer humano con inhibidores de HDAC altamente específicos, inducen la hiperacetilación de 1.750 proteínas²⁴. Este hallazgo sugiere fuertemente que la gran mayoría de los sustratos de los fármacos de HDAC son proteínas no-histonas.

Efectos secundarios sobre la desmetilación global del ADN

El tratamiento de reactivación epigenética basado en agentes desmetilantes, puede inducir como efectos secundarios inestabilidad genómica y/o aumento de la expresión de protooncogenes como resultado de la hipometilación inducida por estos fármacos.

Además, la hipometilación global del DNA se ha asociado tradicionalmente con inestabilidad cromosómica y propensión al desarrollo de neoplasias, y también se ha relacionado más recientemente, una disregulación en los elementos repetitivos del genoma²⁵. La desmetilación de una región LINE-1 situada en un intrón del protooncogen *cMet*, resulta en un transcrito aberrante de *cMET*, que se asocia con la reducción de la expresión de la proteína y de la señalización del receptor de *cMET*. Estos resultados proporcionan una

importante fuente de información, por ejemplo sobre la alteración de la regulación transcripcional que se induce por la desmetilación de elementos repetitivos, lo que sugiere que muchos loci genómicos podrían estar sujetos a los efectos secundarios de la desmetilación epigenética global del ADN²⁶. Por otra parte, es bien sabido que la desmetilación de ADN está estrechamente controlada durante la diferenciación celular, por lo que la desmetilación global que inducen estos fármacos epigenéticos y/o la pérdida de las modificaciones de histonas podrían afectar negativamente a las funciones en las poblaciones de células progenitoras en los pacientes²⁷. Por lo que es crítico la identificación de drogas epigenéticas con dianas más específicas que no actúen sobre las DNMT, sino sobre otros factores o rutas epigenéticas, como podrían ser enzimas que actúan sobre metilación *de novo* específica en cáncer. Por ejemplo, la metiltransferasa EZH2 es una enzima crítica en la metilación de la lisina 27 de la histona 3, involucrada en el desarrollo de distintos tipos tumorales. Una terapia dirigida contra esta diana podría redirigir el establecimiento de programas epigenéticos específicos en cáncer²⁸.

La medicina personalizada está tomando cada vez más fuerza dentro de los sistemas hospitalarios público y privados, ya que su uso permite optimizar e implementar tratamientos que disminuyen tanto el coste de los gastos médicos asociados a la quimioterapia como al coste personal y social que deriva de estos tratamientos y del desarrollo de la enfermedad. Gracias a la introducción de las nuevas técnicas genómicas y epigenómicas de nueva generación como la secuenciación masiva, se está acelerando exponencialmente la identificación de nuevos parámetros moleculares; sin embargo sigue siendo de gran importancia dedicarle tiempo y esfuerzo al estudio de la biología de sistemas, ya que puede explicar la implicación biológica real de cada uno de estos potenciales biomarcadores, así como las rutas celulares que se alteran en cada caso, que en definitiva es lo que puede permitir la identificación y selección de fármacos específicos.

Financiación

Financiado por FIS PS09/00472 y PI12/00386, Ibanez de Cáceres I, disfruta de un contrato «Miguel Servet» del ISCIII (CP 08/000689; PI-717). O. Pernía disfruta de un contrato con el Ministerio de Economía y Competitividad PTA2012/7141-I.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Hamburg MA, Collins FS. The path to personalized medicine. *N Engl J Med*. 2010;363:301–4. Epub 2010 Jun 15.
2. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet*. 2002;3:415–28.
3. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med*. 2003;349:2042–54.

4. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*. 2008;358:1148–59.
5. Brock MV, Hooker CM, Ota-Machida E, Han Y, Guo M, Ames S, et al. DNA methylation markers and early recurrence in stage I lung cancer. *N Engl J Med*. 2008;358:1118–28.
6. Kagan J, Srivastava S, Barker PE, Belinsky SA, Cairns P. Towards clinical application of methylated DNA sequences as cancer biomarkers: a joint NCI's EDRN and NIST works hop on standards, methods, assays, reagents and tools. *Cancer Res*. 2007;67:4545–9.
7. Ibanez de Caceres I, Cortes-Sempere M, Moratilla C, Machado-Pinilla R, Rodriguez-Fanjul V, Manguán-García C, et al. IGFBP-3 hypermethylation-derived deficiency mediates cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer. *Oncogene*. 2010;18(29(11)):1681–90. Epub 2009 Dec 21.
8. Walter K, Holcomb T, Januario T, Du P, Evangelista M, Kartha N, et al. DNA methylation profiling defines clinically relevant biological subsets of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18:2360–73. Epub 2012 Jan 19.
9. Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet*. 2005;37:391–400.
10. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M, et al. A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. *Nat Genet*. 2006;38:566–9.
11. Zhu P, Martin E, Mengwasser J, Schlag P, Janssen KP, Gottlicher M. Induction of HDAC2 expression upon loss of APC in colorectal tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2004;5:455–63.
12. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*. 2010;28:1057–68.
13. Schickel R, Boyerinas B, Park SM, Peter ME. MicroRNAs: keyplayers in the immune system, differentiation, tumorigenesis and cell death. *Oncogene*. 2008;27:5959–74.
14. Iorio MV, Visone R, Di Leva G, Donati V, Petrocca F, Casalini P, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer. *Cancer Res*. 2007;67:8699–707.
15. Du L, Schageman JJ, Irnov I, Girard L, Hammond SM, Minna JD, et al. MicroRNA expression distinguishes SCLC from NSCLC lung tumor cells and suggests a possible pathological relationship between SCLCs and NSCLCs. *J Exp Clin Cancer Res*. 2010;29:75.
16. Yang H, Kong W, He L, Zhao JJ, O'Donnell JD, Wang J, et al. MicroRNA expression profiling in human ovarian cancer: miR-214 induces cell survival and cisplatin resistance by targeting PTEN. *Cancer Res*. 2008;68:425–33.
17. Mascaux C, Keith RL, Feser WJ, Lewis MT, Barón AE, Merrick DT, et al. miR-34c is a potential biomarker for histological response in lung cancer chemoprevention studies. Abstract 790. Translational research, biology and pathology. ESMO European Lung Cancer Conference). 2012.
18. Evron E, Dooley WC, Umbrecht CB, Rosenthal D, Sacchi N, Gabrielson E, et al. Detection of breast cancer cells in ductal lavage fluid by methylation-specific PCR. *Lancet*. 2001;357:1335–6.
19. Ibanez de Caceres I, Battagli C, Esteller M, Herman JG, Dulaimi E, Edelson MJ, et al. Tumor cell-specific BRCA1 and RASSF1A hypermethylation in serum, plasma, and peritoneal fluid from ovarian cancer patients. *Cancer Res*. 2004;64:6476–81.
20. Henrique R, Jeronimo C. Molecular detection of prostate cancer: a role for GSTP1 hypermethylation. *Eur Urol*. 2004;46:660–9.
21. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med*. 2000;343:1350–4.
22. Fandy TE, Herman JG, Kerns P, Jiemjit A, Sugar EA, Choi SH, et al. Early epigenetic changes and DNA damage do not predict clinical response in an overlapping schedule of 5-azacytidine and entinostat in patients with myeloid malignancies. *Blood*. 2009;114:2764–73.
23. Piekarczyk RL, Frye R, Turner M, Wright JJ, Allen SL, Kirschbaum MH, et al. Phase II multi-institutional trial of the histone deacetylase inhibitor omidepsin as monotherapy for patients with cutaneous T-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2009;27:5410–7.
24. Choudhary C, Kumar C, Gnani F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science*. 2009;325:834–40.
25. Wolff EM, Byun HM, Han HF, Sharma S, Nichols PW, Siegmund KD, et al. Hypomethylation of a LINE-1 promoter activates an alternate transcript of the MET oncogene in bladders with cancer. *PLoS Genet*. 2010;6:e1000917.
26. Lizardi PM. As we bring de methylating drugs to the clinic, we better know the DICE being cast. *Oncogene*. 2010;29:5772–4.
27. Hansen KD, Timp W, Bravo HC, Sabunciyan S, Langmead B, McDonald OG, et al. Increased methylation variation in epigenetic domains across cancer types. *Nat Genet*. 2011;43:768–75.
28. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat Res*. 2008;647:21–9.