



CIRUGÍA ESPAÑOLA

www.elsevier.es/cirugia


Artículo especial

Papel de los micro-RNA en el cribado del cáncer colorrectal


 José Antonio Rodríguez-Montes^{a,*} y Pablo Menéndez Sánchez^b
^aServicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

^bServicio de Cirugía General, Hospital Gutiérrez Ortega, Valdepeñas, Ciudad Real, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de mayo de 2014

Aceptado el 28 de mayo de 2014

On-line el 31 de julio de 2014

Palabras clave:

Micro-RNA

Cáncer

Colon

Diagnóstico

Cribado

Keywords:

Micro-RNA

Cancer

Colon

Diagnosis

Screening

RESUMEN

Los micro-RNAs son responsables de la regulación de múltiples procesos biológicos de índole metabólica, de proliferación, de diferenciación, de apoptosis, del desarrollo y de la oncogénesis. En la carcinogénesis, los micro-RNA pueden ejercer su función a través de la alteración de los genes supresores de tumores o mediante la interacción con los oncogenes. Se ha determinado la presencia de diferentes micro-RNA en distintas enfermedades neoplásicas como cáncer de colon, próstata, mama, estómago, páncreas, pulmón, etc. Existen datos prometedores sobre la utilidad de cuantificar los micro-RNA en diferentes fluidos orgánicos y tejidos. Se ha realizado una revisión sobre las determinaciones de los micro-RNA en el diagnóstico del cáncer colorrectal.

© 2014 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Role of micro-RNA in colorectal cancer screening

ABSTRACT

MicroRNAs are involved in carcinogenesis through postranscriptional gene regulatory activity. These molecules are involved in various physiological and pathological functions, such as apoptosis, cell proliferation and differentiation, which indicates their functionality in carcinogenesis as tumour suppressor genes or oncogenes. Several studies have determined the presence of microRNAs in different neoplastic diseases such as colon, prostate, breast, stomach, pancreas, and lung cancer. There are promising data on the usefulness of quantifying microRNAs in different organic fluids and tissues. We have conducted a review of the determinations of microRNAs in the diagnosis of colorectal cancer.

© 2014 AEC. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

 Correo electrónico: rodriguezmontes@salud.madrid.org (J.A. Rodríguez-Montes).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ciresp.2014.05.012>

0009-739X/© 2014 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Introducción

A nivel mundial, el cáncer colorrectal es el tercer cáncer más frecuente en hombres y el segundo en mujeres, siendo la segunda causa de muerte relacionada con la enfermedad tumoral¹. En Estados Unidos, en el año 2013 se estimaron algo más de 140.000 nuevos casos, con una mortalidad de 50.000 casos relacionados con el cáncer colorrectal².

La detección temprana del cáncer colorrectal puede conllevar una disminución en las cifras de incidencia y mortalidad, siendo de especial importancia los métodos de cribado, donde la aparición de síntomas y signos se asocian con estadios avanzados de la enfermedad. Igualmente, el seguimiento de los pacientes que han padecido un cáncer colorrectal tiene como objetivo estudiar a aquellos pacientes con un mayor riesgo de recidiva de la enfermedad.

Lamentablemente, la probabilidad de curación tras la aparición de la clínica es del 50%, mientras que pueden alcanzarse valores superiores al 80% cuando se realiza un diagnóstico temprano. Los métodos de cribado aceptados para el cáncer colorrectal son la detección de sangre oculta en heces, el enema opaco de doble contraste, la colonoscopia y el tacto rectal. La detección de sangre oculta en heces es un método barato y simple, aunque solo el 50% de los tumores y el 10% de los pólipos sangran lo suficiente para diagnosticarse por este método.

Actualmente se debate respecto a las lesiones de colon no diagnosticadas con la sangre oculta en heces ni con la colonoscopia, bien porque sean lesiones no hemorrágicas, bien porque se localicen en el colon proximal, muchas de las cuales tienen una fisiopatología de progresión más agresiva (fenotipo metilador e inestabilidad de los microsátélites)³. A pesar de los diferentes métodos de diagnóstico disponibles, no existe consenso en el empleo de nuevas alternativas para la detección u orientación en las lesiones precursoras y tempranas de la enfermedad neoplásica. Los prometedores avances en el campo de los marcadores moleculares podrían desempeñar un papel importante a ese nivel.

El marcador tumoral puede definirse como un componente «identificable» que está presente en la célula tumoral o que es secretado por estos clones celulares⁴. La presencia de un marcador tumoral en cuantías suprafisiológicas indica la presencia de enfermedad neoplásica, pudiendo aportar valiosa información acerca del comportamiento biológico del tumor^{5,6}. Sin embargo, tanto la ausencia de sensibilidad como de especificidad en las fases iniciales de la enfermedad neoplásica limitan estrictamente la utilización sistemática de la mayoría de los marcadores tumorales en el cribado de pacientes asintomáticos. La estadificación de la enfermedad en el momento de su diagnóstico (determinado por el tamaño tumoral, el grado de diferenciación citológica y la afectación ganglionar) constituye el indicador pronóstico más utilizado en pacientes con cáncer colorrectal. No obstante, también se recurre complementariamente a la valoración de ciertos marcadores pronósticos, cuantificados y determinados tanto en el tejido tumoral como en la sangre periférica⁵.

En 1981, el *National Health Information Center* (NHIC) propuso la monitorización del antígeno carcinoembrionario (CEA) como la mejor técnica no invasiva para la constatación de

recidivas en pacientes con diagnóstico previo de cáncer colorrectal⁷. Posteriormente, en 1996, la *American Society of Clinical Oncology* (ASCO) publicó las guías clínicas basadas en la evidencia para el uso de los marcadores tumorales en el cáncer colorrectal⁸. En 2007, el *European Group on Tumour Markers* (EGTM) actualizó las guías para el uso de marcadores séricos, tisulares y fecales en el cáncer colorrectal⁹.

A pesar de haberse estudiado multitud de marcadores tumorales en el cáncer colorrectal, solo una minoría de ellos se consideran recomendables para su utilización rutinaria. Las diferentes guías oncológicas aceptan y recomiendan: 1) el estudio de sangre oculta en heces para el diagnóstico temprano en personas mayores de 50 años; 2) la determinación de CEA en el seguimiento postoperatorio de pacientes subsidiarios de quimioterapia sistémica o de resecciones quirúrgicas; 3) la inestabilidad de los microsátélites, mediante el estudio genético de MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, para identificar a las personas susceptibles de cáncer colorrectal hereditario no polipósico y 4) la mutación de APC en el diagnóstico de la poliposis adenomatosa familiar⁷⁻⁹.

Los mecanismos epigenéticos fisiológicos que pueden variar la estructura de la cromatina comprenden la metilación del DNA, las modificaciones de las histonas y las del RNA, habiéndose puesto de manifiesto que en el origen de la enfermedad neoplásica las alteraciones epigenéticas pueden ser tan importantes como las modificaciones genéticas, y contribuir ambas a la progresión y desarrollo de la enfermedad neoplásica³. Los micro-RNA son estructuras moleculares de 20-22 nucleótidos con actividad postranscripcional que están implicados en la regulación de la expresión genética. Se ha puesto de manifiesto su participación en distintas funciones fisiológicas y patológicas tales como la apoptosis, la proliferación y la diferenciación celular, y se ha demostrado su funcionalidad como genes supresores de tumores o como protooncogenes en la carcinogénesis¹⁰. En la literatura médica existen diferentes estudios centrados en la detección de los micro-RNA tanto en tejido como en heces o sangre periférica, y se han relacionado sus valores con el diagnóstico y con el pronóstico de la enfermedad neoplásica.

Marcadores en heces

Distintos estudios han llevado a cabo la determinación del DNA fecal para cuantificar los valores de diferentes micro-RNA en heces. Link et al. constataron la sobreexpresión de miR-21 y de miR-106a tanto en lesiones neoplásicas colorrectales como en adenomas, comparándolos con individuos sanos¹¹. En el estudio de Kalimutho et al. se realizó la valoración de la hipermetilación del promotor de miR-34b/c en heces; evidenciaron que hasta el 75% de los pacientes con cáncer colorrectal presentaban hipermetilación de su promotor que se correlacionaba con el estadio tumoral, lo que les llevó a proponer la determinación de la metilación aberrante en heces del miR-34b/c como un marcador de diagnóstico temprano. En condiciones normales, el miR-34 tiene una función de supresión tumoral por participar en el envejecimiento celular, por inducir la apoptosis y por detener el ciclo celular. La metilación aberrante de miR-34b/c, presente hasta en el 97,5% de las neoplasias colorrectales, permitiría, por tanto, la proliferación celular¹².

Asimismo, se ha evidenciado en heces la sobreexpresión de miR-20a, miR-21, miR-92, miR-96, miR-106a, miR-203 y miR-326 en pacientes con enfermedad tumoral colorrectal, mientras que en estadios avanzados de la enfermedad se han hallado niveles bajos de miR-16, miR-125b, miR-126, miR-143, miR-144, miR-145, miR-320 y miR-484-5p¹³. En el estudio de Koga et al., se determinaron, para el miR-17-92 y el miR-135, unos valores de sensibilidad del 70 y 46% con una especificidad del 81 y 95%, respectivamente¹⁴.

A pesar de que diferentes trabajos indican que la determinación de los micro-RNA en heces podría servir como marcador diagnóstico en el cáncer colorrectal, se precisan nuevos estudios que validen estos nuevos marcadores; es necesaria, además, la estandarización de la recogida de muestras y su procesamiento¹⁵.

Marcadores tisulares

Desde que Michael et al. pusieran de manifiesto la disminución en la expresión de miR-143 y de miR-145 en el cáncer colorrectal, han sido muchos los estudios que han buscado las expresiones de los distintos micro-RNA en el cáncer colorrectal. En general, se ha objetivado que casi 300 micro-RNA se encuentran alterados en las muestras de tejido colónico tumoral respecto a la mucosa normal, con una variabilidad importante respecto a los micro-RNA evaluados, número de muestras empleadas y número de micro-RNA alterados¹⁶.

Se han descrito, aproximadamente, cerca de 50 micro-RNA diferentes en las células del cáncer colorrectal. Aquellos micro-RNA que están sobreexpresados se asocian con regiones cromosómicas amplificadas en este tipo de neoplasias, mientras que aquellos micro-RNA que se expresan por debajo de condiciones fisiológicas, se asocian con regiones cromosómicas frecuentemente delecionadas¹⁵.

En la literatura médica se han recogido diferentes micro-RNA sobreexpresados en las neoplasias colorrectales como son, entre otros: miR-15b, miR-17-5p, miR-19a, miR-20, miR-21, miR-29a, miR-31, miR-92, miR-96, miR-135b, miR-148a, miR-181b, miR-182, miR-183, miR-191, miR-200b, miR-200c y miR-212. Por el contrario, los micro-RNA que se encuentran en valores inferiores a los existentes en condiciones normales serían: miR-1, miR-9-1, miR-30a-3p, miR-30a-5p, miR-30c, miR-34a, miR-34b, miR-34c, miR-126, miR-129, miR-133a, miR-133b, miR-137, miR-139, miR-143, miR-145, miR-195, miR-342, miR-422a, miR-422b y *let-7a-1*¹⁷⁻¹⁹.

Marcadores en sangre periférica

En sangre periférica, los micro-RNA se disponen en estructuras denominadas exosomas o microvesículas. La expresión aberrante de los micro-RNA en sangre que se ha constatado en diversos tumores, entre ellos el cáncer colorrectal, hace que los micro-RNA circulantes puedan ser utilizados como marcadores tumorales en el cáncer colorrectal, que han sido propuestos como marcadores de diagnóstico y pronóstico²⁰.

En el trabajo de Chen et al., se objetivó la existencia de varios micro-RNA en el suero de pacientes con cáncer colorrectal que no estaban presentes en individuos sanos, pero la presencia común de algunos de estos micro-RNA en pacientes con cáncer de pulmón llevó posteriormente a la

búsqueda de micro-RNA específicos para el cáncer colorrectal²¹. Ng et al. identificaron 5 micro-RNA (miR-17-3p, -92, -95, -135b, -222) que estaban a la vez sobreexpresados tanto en suero como en tejido tumoral de pacientes con cáncer colorrectal y, además, comprobaron que los valores plasmáticos de miR-17-3p y de miR-92a disminuían sus valores en el período postoperatorio. Concluyeron que el miR-92 tiene una sensibilidad razonable en el cáncer colorrectal, por lo que podría ser empleado en el cribado de esta enfermedad, basándose en que objetivaron una sensibilidad de 89% y una especificidad de 70%, con un área bajo la curva de 0,885²².

En un estudio que incluía 100 casos de cáncer colorrectal, 37 adenomas y 59 pacientes sanos, se obtuvieron valores con significación estadística para los micro-RNA miR-92a y miR-29a ($p < 0,0001$), con una sensibilidad del 84% y una especificidad del 71%. El micro-RNA-92a evidenció un área bajo la curva de 0,838 (intervalo de confianza 95%: 0,775-0,900) en la discriminación entre personas sanas y pacientes con cáncer colorrectal, además, con asociación entre la determinación del miR-29a y el estadio TNM del cáncer colorrectal²³. También, Pu et al. determinaron las expresiones de miR-21, miR-221 y miR-222, mediante qRT-PCR, en 103 casos de cáncer colorrectal y en 37 voluntarios sanos, siendo significativo ($p = 0,0021$) el incremento de miR-221 en los pacientes con cáncer colorrectal respecto a los controles sanos²⁴.

La utilidad complementaria de los micro-RNA quedó también reflejada al poder discernir los adenomas colorrectales avanzados, lo que permite llevar a cabo un diagnóstico de la enfermedad en etapas tempranas: el incremento de miR-29a y miR-92a fue significativo respecto a los controles normales ($p < 0,0001$); la curva ROC mostró para ambos micro-RNA la posibilidad de diferenciar los adenomas colorrectales avanzados, con un área bajo la curva de 0,769 para el miR-29a y de 0,749 para el miR-92a²³. En esa misma línea de investigación, Kanaan et al., al estudiar 380 micro-RNA, encontraron que 8 micro-RNA (miR-532-3p, miR-331, miR-195, miR-17, miR-142-3p, miR-15b, miR-532 y miR-652) diferenciaban pacientes con pólipos colorrectales respecto a individuos sanos, con un área bajo la curva de 0,868²⁵.

A pesar de haberse determinado un gran número de micro-RNA en plasma, los que han presentado unas concentraciones elevadas en los pacientes con tumores colorrectales son miR-29a, miR-95, miR-135b, miR-221, miR-222 y miR-141, relacionándose este último con los tumores en estadio IV. Se ha afirmado que la determinación de miR-141 asociada a la del CEA incrementaría la detección de metástasis hepáticas²⁶. Recientemente, se ha postulado que el miR-29a puede ser empleado también como marcador para diferenciar el cáncer colorrectal con metástasis hepáticas, dado su incremento respecto a estadios no metastásicos²⁷.

Estos avances tecnológicos han permitido realizar una gran variedad de estudios enfocados a la determinación de distintos micro-RNA. El empleo de los microarrays ha puesto de manifiesto una diversidad de micro-RNA presentes en la enfermedad neoplásica colorrectal, implicados explícitamente con el desarrollo de la enfermedad, con la supervivencia, el período libre de enfermedad y con la respuesta terapéutica²⁸. Nexos patogénicos vitales que convierten a los micro-RNA en potenciales marcadores diagnósticos, pronósticos y de respuesta terapéutica. El diagnóstico temprano del

cáncer colorrectal permite tratar la enfermedad en estadios iniciales, haciendo esta neoplasia potencialmente curable, por lo que, independientemente del método, cualquier procedimiento de diagnóstico temprano es mejor que no realizar ningún método de cribado.

Conclusiones

En la actualidad se plantean muchos e importantes desafíos en el desarrollo e implementación de la determinación de los micro-RNA en el organismo, como marcadores diagnósticos en el ámbito clínico del cáncer colorrectal. No obstante, existen resultados alentadores en cuanto a que los micro-RNA circulantes tienen un potencial clínico como marcadores diagnósticos del cáncer colorrectal y de otro tipo de neoplasias; son especialmente prometedores los resultados derivados del estudio del miR-92a, puesto que se ha encontrado una forma «significativa» en las determinaciones realizadas en heces, plasma y tejido tumoral de pacientes con diagnóstico de cáncer colorrectal.

La sensibilidad para la detección temprana del cáncer y de adenomas colorrectales en estadios avanzados representan un papel relevante en este contexto, ya que la combinación de diferentes micro-RNA y la conjugación de los micro-RNA con otros marcadores no invasivos, marcadores tumorales séricos o marcadores en heces, pueden ser motivo de estudio para establecer el verdadero valor diagnóstico de estos nuevos procedimientos. Para ello sería preciso incluir un número razonable de individuos que compendie sujetos sanos, pacientes con diferentes estadios tumorales y con adenomas, así como factores diversos que puedan modificar la expresión de los micro-RNA, tales como comorbilidades o diferentes estilos de vida.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>, accedido 19/02/2014.
2. SEER Cancer Statistics Factsheets: Colon and rectum cancer. National Cancer Institute. Bethesda, MD. [accedido 24 Feb 2014]. Disponible en: <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/colorect.html>
3. Menéndez P, Villarejo P, Padilla D, Menéndez JM, Rodríguez Montes JA. Epigenética y cáncer colorrectal. *Cir Esp*. 2012;90:277-83.
4. Duffy MJ. Role of tumor markers in patients with solid cancers: A critical review. *Eur J Intern Med*. 2007;18:175-84.
5. Yamashita K, Watanabe M. Clinical significance of tumor markers and an emerging perspective on colorectal cancer. *Cancer Sci*. 2009;100:195-9.
6. Duffy MJ. Evidence for the clinical use of tumour markers. *Ann Clin Biochem*. 2004;41:370-7.
7. Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, Lilja H, Brünner N, Chan DW, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem*. 2008;54:e11-79.
8. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:5313-27.
9. Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, et al. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer*. 2007;43:1348-60.
10. Altomare DF, di Lena M, Giuratrabocchetta S. MicroRNA: Future perspectives in colorectal cancer. *Colorectal Dis*. 2012;14:133-4.
11. Link A, Balaguer F, Shen Y, Nagasaka T, Lozano JJ, Boland CR, et al. Fecal micro-RNA as novel biomarkers for colon cancer screening. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19:1766-74.
12. Kalimutho M, di Cecilia S, del Vecchio Blanco G, Roviello F, Sileri P, Cretella M, et al. Epigenetically silenced miR-34bc as a novel faecal-based screening marker for colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2011;104:1770-8.
13. Dong Y, Wu WK, Wu CW, Sung JJ, Yu J, Ng SS. MicroRNA dysregulation in colorectal cancer: A clinical perspective. *Br J Cancer*. 2011;104:893-8.
14. Koga Y, Yasunaga M, Takahashi A, Kuroda J, Moriya Y, Akasu T, et al. MicroRNA expression profiling of exfoliated colonocytes isolated from feces for colorectal cancer screening. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2010;3:1435-42.
15. Wang X, Kuang YY, Hu XT. Advances in epigenetic biomarker research in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014;20:4276-87.
16. Mazeh H, Mizrahi I, Ilyayev N, Halle D, Brücher B, Bilchik A, et al. The diagnostic and prognostic role of microRNA in colorectal cancer: A comprehensive review. *J Cancer*. 2013;4:281-95.
17. Nugent M, Miller N, Kerin MJ. MicroRNAs in colorectal cancer: Function, dysregulation and potential as novel biomarkers. *Eur J Surg Oncol*. 2011;37:649-54.
18. Ferracin M, Veronese A, Negrini M. Micromarkers: miRNAs in cancer diagnosis and prognosis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2010;10:297-308.
19. Menéndez P, Villarejo P, Padilla D, Menéndez JM, Rodríguez-Montes JA. Implications of the histological determination of micro-RNA in the screening, diagnosis and prognosis of colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2013;108:70-3.
20. Menéndez P, Padilla D, Villarejo P, Palomino T, Nieto P, Menéndez JM, et al. Prognostic implications of serum microRNA-21 in colorectal cancer. *J Surg Oncol*. 2013;108:369-73.
21. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, et al. Characterization of micro-RNA in serum: A novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Research*. 2008;18:997-1006.
22. Ng EK, Chong WW, Jin H, Lam EK, Shin VY, Yu J, et al. Differential expression of micro-RNA in plasma of patients with colorectal cancer a potential marker for colorectal cancer screening. *Gut*. 2009;58:1375-81.
23. Huang Z, Huang D, Ni S, Peng Z, Sheng W, Du X. Plasma micro-RNA are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2010;127:118-26.
24. Pu XX, Huang GL, Guo HQ, Guo CC, Li H, Ye S, et al. Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal

- cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25:1674-80.
25. Kanaan Z, Roberts H, Eichenberger MR, Billeter A, Ocheretner G, Pan J, et al. A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: A step toward more precise screening for colorectal cancer. *Ann Surg.* 2013;258:400-8.
26. Cheng H, Zhang L, Cogdell DE, Zheng H, Schetter AJ, Nykter M, et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One.* 2011;6:e17745.
27. Wang LG, Gu J. Serum microRNA-29a is a promising novel marker for early detection of colorectal liver metastasis. *Cancer Epidemiol.* 2012;36:e61-7.
28. Menéndez P, Villarejo P, Padilla D, Menéndez JM, Rodríguez Montes JA. Diagnostic and prognostic significance of serum micro-RNA in colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 2013;107:217-20.