



Regulación epigenética en cáncer de pulmón: implicaciones para el clínico

ADRIANA PATRICIA ROJAS MORENO¹, RICARDO ELÍAS BRUGES², ALEJANDRA CAÑAS ARBOLEDA³,
LUIS FERNANDO JARAMILLO⁴

Cómo citar: Rojas Moreno AP, Bruges RE, Cañas Arboleda A, Jaramillo LF. Regulación epigenética en cáncer de pulmón: implicaciones para el clínico. Univ Med. 2016;57(3):332-47. doi: <http://dx.doi.org/10.11144/Javeriana.umed57-3.recp>

Resumen

En el mundo, el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por neoplasias, y ello se debe a que su detección ocurre en los estadios más avanzados de la enfermedad (III o IV). Dentro de los factores de riesgo descritos en la generación de este cáncer se encuentran el consumo de tabaco, la inhalación y posterior acumulación de radón y asbestos en el tejido pulmonar, la contaminación ambiental y la presencia de alteraciones genéticas y de factores epigenéticos que regulan la expresión o represión de genes involucrados con el desarrollo tumoral. Los mecanismos de regulación epigenética que pueden intervenir en la progresión tumoral son: la metilación del ADN, la modificación covalente de histonas y la presencia de ARN no codificantes. En las diferentes etapas de progresión tumoral se ha descrito la participación de los mecanismos epigenéticos como reguladores de procesos relacionados con proliferación, transición epitelio-mesénquima, metástasis, apoptosis, entre otros. Esta revisión de tema se enfoca en describir el papel de la epigenética en la progresión tumoral pulmonar y plantea la importancia de ampliar el conocimiento en esta disciplina con fines de diagnóstico y tratamiento.

- 1 Licenciada en Biología y Química. MSc, PhD. Profesora asistente, Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- 2 Médico internista-oncólogo, Centro Javeriano de Oncología. Coordinador de Oncología del Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, Colombia.
- 3 Médica internista-neumóloga, Hospital Universitario San Ignacio. Profesora asociada, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- 4 Médico patólogo, Hospital Universitario San Ignacio. Profesor titular, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Recibido: 29/02/2016

Revisado: 01/03/2016

Aceptado: 08/03/2016

Palabras clave: represión epigenética, metilación de ADN, código de histonas, cáncer de pulmón, cromatina.

Title: Epigenetics Regulation of Lung Cancer: Implications for Clinical Doctor

Abstract

Lung cancer is the leading cause of malignancy death worldwide. This phenomenon occurs when detected in the most advanced stages of the disease (stage III or IV). There are risk factors described in the generation of this cancer such as the consumption of tobacco, inhalation and subsequent accumulation of radon and asbestos in lung tissue, environmental pollution, the presence of genetic alterations, and the presence of epigenetic factors regulating the expression or repression of genes involved in tumor development. Epigenetic regulation mechanisms may get involved in tumor progression. They are DNA methylation, histone covalent modification and the presence of noncoding RNAs. At different stages of tumor progression it described, the involve of epigenetic mechanisms as regulators of processes related to proliferation, epithelial mesenchymal transition, metastasis, apoptosis, and others describes different stages of the tumor progression. This review focuses on describing the role of epigenetics in the progression of the lung tumor and remarks on the importance of enhancing knowledge in this discipline for diagnosis and treatment.

Key words: epigenetic repression, DNA methylation, histone code, lung neoplasms, chromatin.

Introducción

Para el 2012, GLOBOCAN, la agencia para la investigación en cáncer de la Organización Mundial de la Salud, reportó 1,8 millones de nuevos ca-

sos de cáncer de pulmón en el mundo (12,9% del total). De estos casos, el 58% se presentó en las regiones menos desarrolladas. Mundialmente, esta enfermedad es el cáncer más común en los hombres, con las tasas de incidencia estandarizadas por edad más altas en Europa del este (53 casos por cada 100.000 habitantes). En las mujeres, la tasa de incidencia es generalmente menor, y ello está asociado a la diferencia en la exposición para fumar tabaco [1,2]. En Colombia, la tasa de incidencia ajustada por edad no ha cambiado desde 1975: se ha encontrado una tasa de 20 por cada 100.000 habitantes, donde el grupo etario más afectado es la población por encima de los 65 años [3]. En el periodo comprendido entre 2007 y 2011 se estableció una tasa de incidencia de 117,9 por cada 1000.000 habitantes para los hombres y de 61,5 para las mujeres. Antioquia y la zona del Eje Cafetero lideran estas cifras por regiones en el país [3].

El cáncer de pulmón es la causa más común de muerte por cáncer en el mundo. Este fenómeno se debe a que su detección ocurre en los estadios más avanzados de la enfermedad (III o IV) [1,2]. Se ha establecido que la relación global entre la mortalidad y la incidencia es de 0,87 [1,2]. En Colombia, el impacto en mortalidad de la enfermedad en no se ha modificado de forma sustancial, por lo menos en el periodo 2007-2011, con una tasa de letalidad

muy cercana al 100 % [3]. La mayor parte de tumores diagnosticados hoy en día corresponden a carcinomas de células no pequeñas de pulmón (NSCLC). Dentro de estos el adenocarcinoma es la variedad histopatológica más frecuente [3]. Desde el 2008, se ha demostrado que la separación de adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas es importante para determinar la terapia óptima para la enfermedad en estadio IIIb o IV [4].

El desarrollo de la terapia dirigida para mutaciones genéticas específicas ha dado lugar a la existencia de la terapia adaptada individualmente. Los análisis de subtipo específico han llevado a subdividir la enfermedad en pacientes con alteración en mutaciones en los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), en pacientes con cambios por reordenamiento en la cinasa del linfoma anaplásico (ALK) y en pacientes con mutaciones del oncogén ROS1. Actualmente, la detección de estas alteraciones es fundamental para definir el tratamiento [4].

El advenimiento de nuevas terapias capaces de modificar el entorno tumoral como un método tan o más eficaz que la quimioterapia han hecho que se desarrollen nuevas moléculas dirigidas a regular el control de la respuesta inmunológica en cáncer (por ejemplo, tratamientos con fármacos anti-PD1 y

anti-PDL1, en cáncer de pulmón escamocelular en segunda línea) [4].

Conocer el entorno que regula las características transcripcionales de los genes involucrados con la proliferación celular, apoptosis, transición epitelio-mesénquima, metástasis y reparación le permitirá al clínico, en un futuro cercano, realizar un diagnóstico temprano y determinar la mejor terapia disponible en cada paciente.

Epigenética y cáncer de pulmón

El término *epigenética* se refiere al estudio de los cambios en la expresión génica que ocurren sin alteraciones en la secuencia de ADN [5]. Para entender este proceso se puede usar una metáfora musical: la partitura correspondería al componente genético (secuencia del ADN), y los instrumentos musicales, a las células y organelos que regulan la expresión de los genes y, en consecuencia, le dan una interpretación diferente a la partitura. De esta manera, la partitura contendría la misma información o melodía; pero la orquesta puede hacer diferentes interpretaciones. Esto es lo que ocurre en la epigenética: la expresión génica puede verse alterada sin que la estructura del ADN cambie o se modifique. La epigenética cumple un papel fundamental en el desarrollo embrionario, en el sistema inmune, en la inactivación del cromosoma X y en el inicio y progresión de enfermedades como el cáncer [6].

Los mecanismos epigenéticos involucran la metilación del ADN, las modificaciones covalentes de las histonas (acetilación, metilación, fosforilación, entre otras) y la presencia de ARN no codificantes [6]. En el inicio y progresión del cáncer de pulmón se ha demostrado la participación de alteraciones genéticas y epigenéticas que resultan en la desregulación de oncogenes, genes supresores de tumores y genes involucrados con los sistemas de reparación del ADN, entre otros [6]. A pesar de que las aberraciones genéticas somáticas, como la mutación y alteraciones en el número de copias, cumplen un papel importante en la oncogénesis, en el cáncer pulmonar las alteraciones epigenéticas son más frecuentes que las mutaciones somáticas (figura 1) [7].

Metilación del ADN

La metilación del ADN consiste en la adición de grupos metilo al carbono 5 de las citosinas presentes en secuencias CpG [8]. En el genoma humano se ha

identificado la existencia de secuencias con alto contenido de dinucleótidos CpG denominadas *islas CpG*. Son regiones donde existe una gran concentración de pares de citosina y guanina enlazados por fosfatos. La *p* en CpG representa que están enlazados por un fosfato. A pesar de que se ha establecido que estas secuencias se encuentran aproximadamente en el 1% de la secuencia del genoma humano, se ha identificado su presencia en el 50% de los promotores. Lo anterior explica la importancia de este mecanismo en la regulación de la expresión génica [8,9]. La reacción de metilación del ADN es catalizada por las ADN-metiltransferasas e involucra la transferencia del grupo metilo de la S adenosil-L-metionina al carbono 5 de la citosina [10]. En células de mamíferos se han identificado tres enzimas diferentes que llevan a cabo esta reacción y se han clasificado en dos grupos: las ADN-metiltransferasas de mantenimiento (DNMT1) y las ADN-metiltransferasas de novo (DNMT3A, DNMT3B, DNMT3L) [11].



Figura 1. Factores genéticos y epigenéticos que regulan el cáncer

La metilación del ADN es un proceso relacionado con represión de la expresión génica. Este proceso puede ocurrir inhibiendo directamente la unión de la maquinaria transcripcional o reclutando otras proteínas o complejos represores [6]. En cáncer, se ha reportado la existencia de patrones aberrantes de metilación. Estas alteraciones incluyen la pérdida de metilación

Tabla 1. Listado de genes susceptibles a hipermetilación en su región promotora en cáncer de pulmón

Gen	Locus		Función
CDKN2A/ p16INK4a	9p21	NSCLC 60 % SCLC 10 %	Inhibidor de ciclina dependiente de cinasa 2 ^a /P16, involucrada en el punto de control G1/S del ciclo celular.
FHIT	3p14.2	NSCLC 60 % SCLC 60 %	<i>Fragile Histidine Triad</i> . Este gen se localiza en una de las zonas más inestables del genoma y desempeña un papel fundamental en las fases iniciales de la carcinogénesis. Se inactiva en el 80 % de los casos de carcinoma de célula no pequeña.
RARβ	9p24.2	45 % NSCLC	Receptor del ácido retinoico tipo β. Relacionado con el ciclo celular y la diferenciación.
MGMT	10q26.3	11-35 % NSCLC	<i>O-6-methylguanine DNA methyltransferase</i> . Enzima del ADN que repara los daños causados por agentes alquilantes.
SHOX2	3q25.32	91-95 % NSCLC	Gen de la familia <i>Homeobox</i> involucrado en la transcripción génica, el crecimiento celular y la diferenciación.
ASC/TMS1	16p11.2	35-47 % NSCLC	Proteínas con dominios <i>PYD</i> y <i>CARD</i> . Mediadores de la apoptosis e inflamación.
APC	5q22.2	30-96 % NSCLC	Gen supresor de tumores (GST). <i>Adenomatous polyposis coli</i> . Involucrada con adhesión celular, migración, apoptosis. Regulador negativo de la vía Wnt.
RASSF1A	3p21.31	NSCLC 30 % SCLC 80 %	<i>Ras association domain family 1 isoform A</i> . GST, cuya inactivación modula la apoptosis y la desregulación del ciclo celular.
DAPK	9q21.33	16-45 % NSCLC	GST. Proteína cinasa asociada a apoptosis.
RUNX3	1p36.11	25 % NSCLC	GST. Factor de transcripción con dominio <i>Runt</i> que regula la expresión de genes relacionados con apoptosis (caspasas) y regulación del ciclo celular.
CDH13	16q23.3	28-30 % NSCLC	<i>H-Cadherin</i> . GST relacionado con proliferación celular y apoptosis.
CDH1	16q22.1	12-58 % NSCLC	<i>E-Cadherin</i> . GST que regula la adhesión celular, el crecimiento y la movilidad. Su pérdida de función en el cáncer está relacionada con incrementos en la proliferación, invasión y metástasis.
TSLC1	11q23.3	NSCLC 85 %	GST involucrada con la adhesión celular.
DAL1	18p11.31	55 % NSCLC	GST. <i>Erythrocyte membrane protein bank 4.1-like 3</i> . Relacionada con el ciclo celular y la apoptosis.
PTEN	10q23.31	25 % NSCLC	GST. Fosfatasa involucrada con el control de ciclo celular y regulador negativo de la vía AKT/PKB.

Fuente: modificado de Langevin y colaboradores [7].

en secuencias normalmente metiladas (hipometilación) y la metilación de secuencias usualmente no metiladas (hipermetilación) [11]. Además, se ha demostrado que la metilación aberrante también puede ocurrir en ARN no codificantes que pueden cumplir una función importante en la progresión tumoral [12].

Algunos de los genes estudiados en el contexto de hipermetilación de sus promotores en cáncer de pulmón incluyen: CDKNA/P16INK4a, RASSF1, MGMT, APC, DAPK, FHIT, CDH13, RAR β , SHOX2, RUNX3, CDH1, TSCL1, ASC/TMS1, DAL1, PTEN, GSTP1. Tal como se describe en la tabla 1, la hipermetilación es un proceso que puede ocurrir en genes supresores de tumores, genes involucrados con el control del ciclo celular, proliferación, apoptosis, adhesión celular, movilidad y reparación del ADN [7]. De igual manera, en algunos casos la hipermetilación de algunos genes en el cáncer de pulmón está relacionada con los diferentes estadios de este cáncer (I, II, III o IV). Por ejemplo, se ha reportado que la hipermetilación de CDKN2A es un evento que ocurre muy temprano (fase premaligna); mientras que la metilación de los genes RASSF1A, APC, ESR1, ABCB1, MT1G y HOXC9 está asociada con NSCLC estadio I. Por otra parte, la hipermetilación de los genes hDA-B21P, H-Cadherin, DAL-1 y FBN2 está

asociada con fases avanzadas del NSCLC [7].

En contraste con la hipermetilación, la hipometilación es un evento asociado con estadios avanzados en el cáncer pulmonar, al menos en adenocarcinoma. Este mecanismo está relacionado con la activación de oncogenes y con la pérdida de impronta génica. En el cáncer pulmonar se ha reportado hipometilación de los genes MAGEA, TKTL1, BORIS, DDR1, TMSB10, ROR1, entre otros (tabla 2) [13-17]. En algunos casos, la metilación del ADN no es el mecanismo que inicia el silenciamiento génico, sino que realmente constituye un componente útil para mantenerlo [11,18]. En estos casos se ha demostrado que para que ocurra la metilación del ADN se requiere la presencia de modificaciones represoras en algunos residuos de las colas de las histonas. En contraste, el enriquecimiento en los niveles globales de marcas activadoras como la acetilación también está estrechamente relacionado con la hipometilación del ADN y con la activación transcripcional de algunos genes involucrados con la progresión tumoral [18].

Modificación covalente de histonas en cáncer de pulmón

En los eucariotas, el ADN se empaqueta al asociarse con proteínas denominadas *histonas*. Así se constituyen los nucleos-

Tabla 2. Listado de genes reportados como susceptibles a hipometilación en sus promotores, en cáncer de pulmón

Gen	Locus	Función
MAGE-A1	Xq28	Prooncogen. Miembro de la familia MAGEA. Sobrexpresado en varias clases de cáncer.
MAGE-A3	Xq28	Prooncogen. Miembro de la familia MAGEA. Sobrexpresado en varias clases de cáncer. Involucrado con trastornos hereditarios como la disqueratosis congénita.
TKTL1	3p21.1	Prooncogen. <i>Transketolase-like 1</i> . Se ha descrito que la sobreexpresión de este gen en tumores favorece el crecimiento del tumor la metástasis.
BORIS	20q13.31	Factor de transcripción que regula la activación epigenética de protoncogenes.
DDR1	6p21.3	Receptor tirosinasa involucrado en el microambiente celular, la regulación del ciclo celular, la diferenciación y el metabolismo.
TMSB10	2p11.2	Timosín B10 es una proteína que secuestra los monómeros de la actina y regula la organización del citoesqueleto de la actina. Se ha reportado su sobreexpresión en cáncer de pulmón NSCLC.
ROR1	1p31.3	Receptor tirosinasa huérfano. Su función está relacionada con proliferación, diferenciación, angiogénesis y migración celular durante el desarrollo embrionario temprano de varios tejidos y órganos.

Fuente: modificado de Glazer y cols. [13], Kim y Lee [14], Kayser y cols. [15], Renaud y cols. [16], y Hong y cols. [17].

somas. Cada uno de estos está formado por un octámero de histonas que contiene dos subunidades de cada tipo. Sobre este octámero se enrollan 147 pb de ADN. Los extremos N-terminal de las histonas, que forman el nucleosoma, protruyen de esta estructura y son blanco de modificaciones postraduccionales como acetilaciones, metilaciones, fosforilaciones, entre otras, que pueden favorecer o desfavorecer la compactación de la cromatina y, en consecuencia, cambiar la accesibilidad de la maquinaria transcripcional [6,19].

La acetilación de histonas, en general, está asociada con activación génica.

Esta modificación puede ser removida por otras enzimas denominadas *deacetiltransferasas* (HDAC), las cuales al remover una marca activadora son consideradas represoras transcripcionales [20]. Por el contrario, la metilación en las histonas puede estar relacionada con estados activos o inactivos de expresión génica, dependiendo del residuo modificado y del número de grupos metil (monometil, dimetil, trimetil) [21]. Existen dos mecanismos mediante los cuales las modificaciones covalentes de histonas ejercen su función. El primero es por medio de la alteración del contacto entre histonas ubicadas en nucleosomas adyacentes, o entre histonas y la hebra

de ADN [6]. Para este caso, la acetilación de histonas, mediante la adición de una carga negativa, tiene un mayor potencial para relajar la estructura de la cromatina [6]. El segundo mecanismo por el cual las modificaciones covalentes ejercen su función es mediante el reclutamiento de proteínas no histónicas que favorecen o no la transcripción mediante su actividad enzimática [20].

La metilación como modificación covalente no altera la carga del residuo, pero genera un cambio en el tamaño y la basicidad, lo que interfiere con interacciones intra- e intermoleculares dentro de la fibra cromatínica. Alternativamente puede crear nuevos sitios de unión para proteínas que reconocen específicamente proteínas metiladas por medio de dominios denominados *cromodominio*, PHD, Tudor, entre otros [20]. Esta modificación es catalizada por proteínas con actividad histona-metiltransferasa (HMT) y puede ocurrir en residuos de lisina y arginina. Las histonas metiltransferasas de lisinas (KMT) catalizan la metilación en el N-terminal de la histona H3 y H4 y puede ocurrir en los residuos K4, K9, K27, K36 Y K79. Estos pueden ser mono, di o trimetilados [6]. La metilación puede ser removida por enzimas demetilinas, cuya característica es su especificidad por el sustrato. Dado que la metilación de las histonas puede estar relacionada con activación o represión transcripcional, dependiendo del residuo modificado y

el grado de metilación (si es mono, di o trimetilado), en la literatura están bien descritas las modificaciones asociadas con actividad y represión. Así, las modificaciones asociadas con actividad son H3K4Me3, H3K9Ac, H3K27Ac, entre otras. Por otra parte, las asociadas con represión son H3K27Me3, H3K9Me3, H3K9Me2, H3K9Me, H3K4Me, entre otras [20].

En cáncer se ha reportado la existencia de patrones epigenéticos aberrantes en las histonas, los cuales se caracterizan por la sobreexpresión de enzimas modificadoras de histonas (metiltransferasas, acetilasas, demetiltransferasas o deacetiltransferasas) y aumentos o reducciones en modificaciones asociadas a represión o activación de genes involucrados con el proceso tumoral [11,19]. Por ejemplo, en pacientes de cáncer gástrico y de seno se han detectado reducciones globales en los niveles de trimetilación de H4K20 (H4K20Me3) y acetilación de H4K16 (H4K16Ac), acompañados con hipometilación del ADN [6].

En el cáncer de pulmón se ha reportado la existencia de patrones de modificaciones aberrantes en la histona H4; específicamente hiperacetilaciones de H4K5/H4K8, hipoacetilación de H4K12/H4K16 y pérdidas de trimetilación de H4K20 [7]. En células normales del epitelio pulmonar se han detectado altos niveles de enriquecimientos de

H4K20Me₃; en contraste, pacientes con adenocarcinoma presentan una disminución de esta modificación, con una frecuencia del 28 %, y en cáncer escamocelular, pérdidas con una frecuencia del 67 %. De esta manera, se ha planteado esta modificación como un posible biomarcador para la detección temprana de cáncer pulmonar [7]. Por otra parte, respecto a los cambios que involucran la histona H3, se han relacionado los bajos niveles de H3K4Me₂, H3K9 Ac y H3K18Ac con marcadores pronóstico de pacientes con cáncer de pulmón NS-CLC estadio I [9].

Adicionalmente, se ha determinado que el epitelio respiratorio puede sufrir alteraciones epigenéticas asociadas a componentes ambientales, como el humo de tabaco u otros agentes cancerígenos asociados. Al respecto Stojanovic y colaboradores [22] demostraron que los iones de níquel presentes en el humo del tabaco inducen deacetilación de las histonas H2A, H2B, H3 y H4, e incrementos en la marca H3K9Me₂ (marcas asociadas a represión transcripcional).

Referente a la expresión alterada de enzimas modificadoras de histonas en cáncer de pulmón, Sasaki y colaboradores [23] reportaron que la expresión de HDAC1 puede estar relacionada con el tamaño del carcinoma pulmonar. Bartling y colaboradores [24] informaron respecto a aumentos en los niveles de HDAC3 en cáncer de pulmón escamo-

celular, y Minamiya y colaboradores [25] reportaron sobreexpresiones de HDAC1 y HDAC3 en pacientes con adenocarcinoma pulmonar. Estos resultados permiten establecer que la regulación transcripcional mediada por las HDAC en el cáncer pulmonar es fundamental para el desarrollo de la enfermedad. Estos resultados respaldan el uso de inhibidores de HDAC (HDACi) para terapia futura [9].

Otros modificadores de histonas detectados en cantidades aumentadas en el cáncer pulmonar son las enzimas pertenecientes al grupo Polycomb [7]. Este grupo es un complejo de enzimas fundamentales para mantener la pluripotencia y sobrevivencia de células madre. Este complejo está formado por las enzimas EZH2, Eed y Suz12 [20]. La enzima EZH2 es una histona metiltransferasa que cataliza la presencia de la marca represora H3K27Me₃ en los promotores. En cáncer de pulmón se han detectado aumentos en la expresión de esta enzima y, en consecuencia, incrementos el de H3K27Me₃ en los promotores de algunos genes supresores de tumores [7].

ARN no codificantes

Los ARN no codificantes son secuencias de ARN que no codifican para proteínas. Los micro-ARN son pequeñas moléculas de ARNA (-18-22 nt) que regulan negativamente la expresión de

algunos ARN mensajeros y que en cáncer de pulmón se encuentran frecuentemente desregulados [6]. En la tabla 3 se encuentran algunos micro-ARN reportados para cáncer pulmonar. Algunos de ellos tienen importancia como potenciales marcadores pronóstico. Tal es el caso de mir-155, cuya sobreexpresión fue detectada en 104 pacientes con cáncer de pulmón primario [26] y posteriormente confirmado en 32 pacientes con adenocarcinoma pulmonar en otro estudio [27]. La presencia de micro-ARN se ha detectado directamente en el tejido tumoral e incluso en muestras de sangre periférica de pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón. Al respecto se ha establecido que la presencia de miR-96, miR-182, miR-183, miR-486, miR-30d, miR-1 y miR-499 pueden tener un valor pronóstico en sangre para este tipo de neoplasia. Dichos resultados los reportó un estudio en el que se trabajó con una cohorte de 243 pacientes con NSCLC [28].

Los ARN no codificantes largos (lncRNA) son secuencias de ARN de longitud superior a los 200 nucleótidos que están involucrados en procesos biológicos importantes como el desarrollo embrionario, la diferenciación celular, la inactivación del cromosoma X, fenómenos de impronta génica, inicio y progresión del cáncer [6]. En general, en cáncer se ha determinado que los lncRNA pueden cumplir una función reguladora en la expresión de genes

supresores de tumor y oncogenes [6]. En cáncer pulmonar se ha reportado la desregulación de PVT1 y ADAMTS9-AS2 comparada con la expresión detectada en tejido epitelial pulmonar normal [29]. Por otra parte, en cáncer de pulmón NSCLC se ha establecido que la sobreexpresión de los lncRNA MALAT1 y HOTAIR está asociada con metástasis y mal pronóstico, respectivamente [7] (tabla 4).

Modificadores de la cromatina y terapia en cáncer de pulmón

Gracias a la reversibilidad de las modificaciones epigenéticas, los modificadores de la cromatina son blancos potenciales para el desarrollo de estrategias terapéuticas más efectivas contra el cáncer [12]. Dentro de las estrategias terapéuticas reportadas, se encuentran los inhibidores de las histonas deacetilasas (HDACi), inhibidores de ADN-metil transferasas (DNMTi) e inhibidores de Janus cinasa 2 (JAK2i) [30].

En estudios experimentales clínicos los inhibidores de DNMT más frecuentemente usados son azacitidina (5-azacitidina, vidaza) y decitabina (5-aza-2-deoxyxitidina) [12]. Los dos compuestos inducen demetilación pasiva del ADN y se incorporan a este durante la replicación [12]. Se ha descrito que la azacitidina también tiene un efecto en los patrones de modificación de histonas, específicamente alterando

Tabla 3. Micro-ARN desregulados en cáncer de pulmón

Micro-ARN	Locus	Genes blanco
Upregulated		
miR-21	17q23.1	ZNF367,GPR64,YOD1,PHF14,PLEKHA1,PIKFYVE,PBRM1,GATAD2B,SCML2,VCL
miR-31	9p21.3	RSBN1,ARHGEF2,IDE,NR5A2,SH21A,ZNF512,PRKCE,PI3KC2A,PEX,SATB2
miR-92b	1q22	CD69,FNIP,SLC12A5,MAN2A1,ACTC1,BFXW7,ASPH,DCAF6,SYN2,EFR3A
miR-182	7q32.2	RGS17,MITF,MFAP3,CTTN,TMEM20,EDNRB,ACTR2,CAMSAP1L1,EPAS1,NPTX1
miR-183	7q32.2	ABAT,AKAP12,PIGX,PFN2,PTPN4,REV1,IGTB1,KCNK10,C20orf177,FRMD6
miR-193b	16p13.12	ABI2,IL17RD,SLC10A6,DCAF7,FLI1,JUB,SON,ERB4,FHDC1,IDE
miR-196a	17q21.32	HOXC8,HOXA7,SLC9A6,HOXA9,KLHL23,PHOSPHO2-KLH23,ZMYND11,PACRGL,HOXB8,MAPK3K1
miR-200b	1p36.33	ZEB1,FAM122C,ZEB2,LRP1B,WIPF1,ELL2,MCFD2,RECK,SEC23A,C7orf58
miR-203	14q32.33	ZNF281,CAMTA1,B3GNT5,LIFR,ABCE1,NUDT21,AF4,PRPS2,SEMA5A,SMAD9
miR-205	1q32.2	ZNF606,CMTM4,DMXL2,BTBD3,LPCAT1,SECISBP2L,YES1,C16orf52,CHN1,DLG2
miR-210	11p15.5	THSD7A,ISCU,ZNF462,NR1D2,DIMT1L,FAM116A,ARMC1,NEUROD2,ELFN2,SYNGAP1
miR-708	11q14.1	GON4L,SEMA4C,KIAA0355,HOXB3,ALG9,FOXJ3,EFR3B,DCUN1D5,MPL,RNF150
Downregulated		
miR-30a	6q13	PPARGC1B,ANKRA2,MKRN3,LMBR1,EED,LHX8,KLHL20,SNX16,SCN2A,CELSR3
miR-30b	8q24.22	PPARGC1B,ANKRA2,MKRN3,LMBR1,EED,LHX8,KLHL20,SNX16,SCN2A,CELSR3
miR-30d	8q24.22	PPARGC1B,ANKRA2,MKRN3,LMBR1,EED,LHX8,KLHL20,SNX16,SCN2A,CELSR3
miR-101	1p31.3	FAM108C1,GLTSCR1,ZNF654,EYA1,FLRT3,CYDL,TNPO1,LCOR,M YCN,TET2
miR-126-3p	9q34.3	PTPN9,PLXNB2,RGS3,KANK2,EFHD2,CAMSAP1,ZNF219,SPRED1,LRP6,RNF165
miR-138	3p21.32	GPR124,CREB3L2,RMND5A,NFIX,WWC1,RARA,PPI5K1SLC35F1,SYT13,CLEC1A
miR-139-5p	11q13.4	TMF1,USP6NL,TBX1,SCAPER,NDRG2,DCDBL2,SLC9A2,PRDM16,EBF1,MORN4
miR-140-3p	16q22.1	GOCP,LOC221710,STAG2,ACVR2B,VGLL2,CBL,UBAP2L,FAIM,PITPNM3,MARCKS
miR-143	5q32	DENND1B,VASH1,ASAP3,SLC30A8,ABL2,TTPA,SLC25A15,MSI2,EPM2AIP1,AKAP6
miR-145	5q32	TPM3.FSCN1,SRGAP2,FAM108C1,NAV3,ABCE1,KCNA4,PLDN,FL1,SEMA3A
miR-451	17q11.2	OSR1,PSMB8,TTN,TSC1,C11orf30,AEBP2,S1PR2,MEX3C,CAB39,SA MD4B
miR-486-3p	8p11.21	NAT15,RGAG4,SF3A1,TMEM132E,GDI1,FLOT2,LPPR2,DMBX1,FYCOI,CNP
miR-486-5p	8p11.21	RAB8B,EFHC1,ST3GAL1,SSH3,RBM4,TTBK1,UNC45A,NUCB1,TAOK1,SDC3
Let-7a	22q13.31	C14orf28,FIGLN2,MHGA2,LIN28B,TRIM71,IGDCC3,ARID3B,STAR D9,PTAFR,THRSP

Fuente: Liloglou y cols. [9].

Tabla 4. lncRNA descritos en cáncer de pulmón

lncRNA	Significancia
MALAT1	Sobrexpresión. Relacionado con metástasis en cáncer NSCLC
HOTAIR	Sobrexpresión. Indicador de mal pronóstico.
BC200	Expresión desregulada.
H19	Sobrexpresión. Pérdida de imprinting en adenocarcinoma.
PVT1	Sobrexpresión. Función aún no descrita.
ADAMTS9-AS2	Sobrexpresión. Función aún no descrita.

Fuente: Langevin y cols. [7].

los niveles de la marca represora H3K-27Me3 al disminuir la expresión de EZH2, enzima responsable de esta modificación [31].

Últimamente se ha reportado una posible relación entre los niveles de ARNm de HDAC (clase I y II) y la supervivencia de pacientes con cáncer de pulmón de célula no pequeña (NSCLC), que ha permitido caracterizarlos como predictores independientes de supervivencia [32,33]. En las células tumorales se han reportado patrones de acetilación aberrantes que conducen la expresión alterada de genes [34,35]. De esta manera, se ha determinado que la inhibición de las HDAC conduce al enriquecimiento en los niveles de acetila-

ción y, en consecuencia, a la expresión desregulada de algunos genes involucrados con el cáncer [36]. Algunos de los inhibidores de HDAC reportados como fármacos para el tratamiento del cáncer de pulmón son: butirato de sodio, vorinostat y panobinostat. El vorinostat (ácido hidroxámico suberoilánilida [SAHA]) es un fármaco usado por su actividad antitumoral, pues favorece la apoptosis mediante la inhibición de deacetilasas de histonas (HDAC) clase I y II [36]. Desafortunadamente, tanto el vorinostat como el butirato de sodio han demostrado poca eficacia en el cáncer de pulmón de célula no pequeña [32,37,38].

Otra vía de regulación en la que interviene el vorinostat es la de regulación de la proteína c-FLIP. Esta proteína antiapoptótica bloquea la muerte celular mediante la activación del receptor del complejo de señalización inductor de apoptosis (DISC) y su unión a la caspasa 8. En varios tipos de cáncer se ha reportado que vorinostat regula la disminución de la proteína c-FLIP. Algunos estudios han mostrado cómo este y otros mecanismos podrían ser de utilidad en la regulación de la acetilación de histonas, al potenciar el efecto de la radioterapia en pacientes con cáncer de pulmón [39,40].

Existen varios estudios en curso en diferentes escenarios y procesos de investigación que han encontrado un

perfil de efectividad con un porcentaje de complicaciones por toxicidad aceptable; es el caso de la combinación de agentes pan inhibidores de HDAC como el panobinostat en combinación con terapias anti-EGFR como el erlotinib [41,42]. Sin embargo, la progresión del tratamiento con inhibidores de tirosinasa en segunda línea, en combinación de vorinostat más erlotinib no ha demostrado eficacia [43]. La combinación de este tipo de terapias con la quimioterapia convencional con base en derivados de platino muestra un perfil de seguridad aceptable [44]. Por otra parte, un estudio fase II/III, en el cual se combinó carboplatino más paclitaxel y vorinostat en pacientes con NSCLC en estadios IIB o IV de la enfermedad sin exposición previa a cualquier terapia no reportó eficacia, frente al tratamiento estándar [45].

El tratamiento en combinación de inhibidores de DNMT y HDAC ha mostrado eficacia; por los menos en un ensayo clínico donde se exploró la combinación de 5-azacitidina con entinostat, un inhibidor de HDAC, para el tratamiento de pacientes con NSCLC refractarios al tratamiento con quimioterapia [46]. De igual manera, se encuentran en curso estudios que exploran posibles beneficios de la combinación de HDAC más inmunoterapia en particular con agentes anti-PD1. [47]. Si bien los resultados de la investigación clínica no ofrecen a la fecha resultados

contundentes, la combinación de estos agentes hacia el futuro —en particular con radioterapia o inmunoterapia— podría ofrecer una aproximación más eficaz al tratamiento de los pacientes con cáncer de pulmón.

Conclusiones

Para el médico clínico es fundamental entender y familiarizarse con los mecanismos epigenéticos que regulan la expresión génica, dado que estos eventos pueden ocurrir tempranamente y son más frecuentes que las mutaciones en cáncer de pulmón. Los mecanismos epigenéticos involucran la metilación del ADN, las modificaciones covalentes de las histonas (acetilación, metilación, fosforilación, entre otras) y la presencia de ARN no codificantes, que pueden servir como diagnóstico, pronóstico y blancos terapéuticos para el tratamiento del cáncer, dada la reversibilidad de estos cambios. Están en curso diferentes estudios en animales y pacientes para determinar la eficacia y seguridad de los inhibidores de metiltransferasa de ADN e inhibidores de histona desacetilasa para establecer la posibilidad de diagnosticar tempranamente y mejorar el pronóstico de los pacientes con el cáncer de pulmón.

Referencias

1. Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, Boyle P. Cancer incidence in five continents. Vol.

- IX. Lyon: IARC Scientific Publications; 2007.
2. Forman D, Bray F, Brewster DH, Gombe Mbalawa C, Kohler B, Piñeros M, Steliarova-Foucher E, Swaminathan R, Ferlay J, editors. Cancer incidence in five continents [internet]. Vol. X. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC). Disponible en: <http://ci5.iarc.fr>
 3. Pardo C, Cendales R. Incidencia, mortalidad y prevalencia de cáncer en Colombia, 2007-2011. Bogotá: Instituto Nacional de Cancerología; 2015.
 4. Sholl LM. Biomarkers in lung adenocarcinoma: a decade of progress. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139:469-5.
 5. Hsieh T, Fischer R. Biology of chromatin dynamics. *Annu Rev Plant Biol.* 2005;327-51.
 6. Allis D, Caparros M, Jenuwein T, Reinberg D. Epigenetics. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2015.
 7. Langevin S, Kratze R, Kelsey K. Epigenetics of lung cancer. *Transl Res.* 20015 Jan;165(1):74-90. doi: 10.1016/j.trsl.2014.03.001
 8. Cheng X, Blumenthal R. Coordinated chromatin control: structural and functional linkage of DNA and histone methylation. *Biochemistry.* 2010 Apr 13;49(14):2999-3008.
 9. Liloglou T, Bediaga N, Brown B, Field J, Davies M. Epigenetic biomarkers in lung cancer. *Cancer Lett.* 2012 Jan 28;342(2):200-12.
 10. La Salle J, Trasler J. Dynamic expression of DNMT3a and DNMT3b isoforms during male germ cell development in the mouse. *Dev Biol.* 2006;296:71-8.
 11. Rodríguez M, Ascencia N. Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Rev Invest Clín.* 2004;56(1):56-7.
 12. Mehta A, Dobersch S, Romero A, Barreto G. Epigenetics in lung cancer diagnosis and therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2015 Jun;34(2):229-41.
 13. Glazer A, Smith M, Ochs M. Integrative discovery of epigenetically depressed cancer testis antigens in NSCLC. *PLoS One.* 2009;4:e8189.
 14. Kim H, Lee C. Expression of cancer-testis antigens MAGE-A3/6 and NY-ESO-1 in non-small-cell lung carcinomas and their relationship with immune cell infiltration. *Lung.* 2009;187:401-11.
 15. Kayser G, Siemel G, Kubitz B. Poor outcome in primary non-small cell lung cancers is predicted by transketolase TKTL1 expression. *Pathology.* 2011;43:719-24.
 16. Renaud S, Pugacheva M, Delgado D. Expression of the CTCF-paralogous cancer-testis gene, brother of the regulator of imprinted sites (BORIS), is regulated by three alternative promoters modulated by CpG methylation and by CTCF and p53 transcription factors. *Nucl Acid Res.* 2007;35:7372-88.
 17. Hong J, Kang Y, Abdullaev Z. Reciprocal binding of CTCF and BORIS to the NY-ESO-1 promoter coincides with depression of this cancer-testis gene in lung cancer cells. *Cancer Res.* 2005;65:7763-74.
 18. Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylome. *Hum Mol Genet.* 2007 Apr 15;16 Spec No 1:R50-59. doi:10.1093/hmg/ddm018.
 19. Rando O, Chang H. Genome wide views of chromatin structure. *Annu Rev Biochem.* 2009;78:245-71.

20. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007;128:693-705.
21. Zhang Q, Ramlee MK, Brunmeir R, Villanueva CJ, Halperin D, Xu F. Dynamic and distinct histone modifications modulate the expression of key adipogenesis regulatory genes. *Cell Cycle*. 2012;11(23):4310.
22. Stojanovic D, Nikic D, Lazarevic K. The level of nickel in smoker's blood and urine. *Cent Eur J Public Health*. 2004;12(4):187-9.
23. Sasaki H, Moriyama S, Nakashima Y, Kobayashi Y, Kiriyama M, Fukai I, Yamakawa Y, Fujii Y. Histone deacetylase 1 mRNA expression in lung cancer. *Lung Cancer*. 2004;46:171-8.
24. Bartling B, Hofmann HS, Boettger T, Hansen G, Burdach S, Silber RE, Simm A. Comparative application of antibody and gene array for expression profiling in human squamous cell lung carcinoma. *Lung Cancer*. 2005;49(2):145-54. doi:10.1016/j.lungcan.2005.02.006
25. Minamiya Y, Ono T, Saito H, Takahashi N, Ito M, Motoyama S, Ogawa J. Strong expression of HDAC3 correlates with a poor prognosis in patients with adenocarcinoma of the lung. *Tumour Biol*. 2010;31(5):533-9. doi: 10.1007/s13277-010-0066-0.
26. Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, et al. Unique MicroRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell*. 2006;9(3):189-98.
27. Yu SL, Chen HY, Chang GC, Chen CY, Chen HW, Singh S, et al. MicroRNA signature predicts survival and relapse in lung. *Cancer Cell*. 2008;13(1):48-57. doi: 10.1016/j.ccr.2007.12.008
28. Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(10):1721-6. doi: 10.1200/JCO.2009.24.9342
29. Yuan J, Yue H, Zhang M, Luo J, Liu L, Wu W, et al. Transcriptional profiling analysis and functional prediction of long noncoding RNAs in cancer. *Oncotarget*. 2016 Jan 23;7(7):8131-42.
30. Lyko F, Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(20):1498-506.
31. Komashko V, Farnham P. 5-azacytidine treatment reorganizes genomic histone modification patterns. *Epigenetics*. 2010;5(3):229-40.
32. Jones DR, Moskaluk CH A, Gillenwater HH, Petroni GR, et al. Phase I Trial of induction histone deacetylase and proteasome inhibition followed by surgery in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2012 Nov;7(11):1683-90.
33. Prince HM, Bishton MJ, Harrison SJ. Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2009; 15:3958-69.
34. Glozak MA, Sengupta N, Zhang X, Seto E. Acetylation and deacetylation of non-histone proteins. *Gene*. 2005;363:15-23.
35. Kim SC, Sprung R, Chen Y, Xu Y, Ball H, Pei J, et al. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Mol Cell*. 2006;23(4):607-18.
36. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2009;27:5459-68.
37. Langevin S, Kratzke R, Kelsey K. Epigenetics of lung cancer. *Transl Res*. 2015 Jan;165(1):74-90.

38. Mayo MW, Denlinger CE, Broad RM, Yeung F, Reilly ET, Shi Y, et al. Ineffectiveness of HDAC inhibitors to induce apoptosis involves the transcriptional activation of NF- κ B through the Akt pathway. *J Biol Chem.* 2003;278:18980-9.
39. McLaughlin KAJ, I Stasik, KM Prise, PG Johnston, DB Longley. The HDAC inhibitor vorinostat (SAHA) down-regulates C-FLIP and sensitizes human non-small cell lung carcinoma cell lines to ionising radiation. *European Journal of Cancer.* 2012;48(Suppl 5):S272-3. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049\(12\)71732-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049(12)71732-X)
40. Riley JS, Hutchinson R, McArt DG, Crawford N, Holohan C, Paul I, et al. Prognostic and therapeutic relevance of FLIP and procaspase-8 overexpression in non-small cell lung cancer. *Cell Death Dis.* 2013;4:e951. doi: 10.1038/cddis.2013.481.
41. Gray JE, Haura E, Chiappori A, Tanveyanon T, Williams CC, Pinder-Schenck M, A phase I, pharmacokinetic and pharmacodynamic study of panobinostat, an HDAC inhibitor, combined with erlotinib in patients with advanced aerodigestive tract tumors. *Clin Cancer Res.* 2014 Mar 15;20(6):1644-55.
42. Greve G, Schiffmann I, Pfeifer D, Pantic M, Schüler J, Lübbert M. The pan-HDAC inhibitor panobinostat acts as a sensitizer for erlotinib activity in EGFR-mutated and -wildtype non-small cell lung cancer cells. *BMC Cancer.* 2015;15:947.
43. Reguart N, Rosell R, Cardenal F, Cardona AF, Isla D, Palmero R, et al. Phase I/II trial of vorinostat (SAHA) and erlotinib for non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations after erlotinib progression. *Lung Cancer.* 2014 May;84(2):161-7.
44. Trédaniel R, Descourt D, Moro-Sibilot J, Misset E, Gachard J, Garcia-Vargas E, et al. Vorinostat in combination with gemcitabine and cisplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A Phase I dose-escalation study. *J Clin Oncol.* 2009;27:35-7.
45. Ramalingam SS, Maitland ML, Frankel P, Argiris AE, Koczywas M, Gitlitz B, et al. Carboplatin and Paclitaxel in combination with either vorinostat or placebo for first-line therapy of advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28(1):56-62.
46. Juergens RA, Wrangle J, Vendetti FP, Murphy SC, Zhao M, Coleman B, et al. Combination epigenetic therapy has efficacy in patients with refractory advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Discov.* 2011;1(7):598-607. doi: 10.1158/2159-8290.
47. ClinicalTrials.gov. Ph1b/2 Dose-Escalation Study of Entinostat with Pembrolizumab in NSCLC with Expansion Cohorts in NSCLC and Melanoma [internet]. NCT02437136. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02437136>

Correspondencia

Adriana Patricia Rojas Moreno
 Instituto de Genética Humana
 Pontificia Universidad Javeriana
 Carrera 7 # 40-62, edificio 32, 2° piso
 Bogotá, Colombia
rojas-adriana@javeriana.edu.co
