



Metilación del ADN en cáncer de mama

Diana Casandra Rodríguez-Ballesteros,*
Sigfrid Leonardo García-Moreno-Mutio,* Joel Jaimes-Santoyo,* Rosa Elda Barbosa-Cobos,**
Alberto de Montesinos Sampedro,*** Olga Beltrán-Ramírez*

RESUMEN

En México, el cáncer de mama es un problema de salud pública por su frecuencia y mortalidad. Es la primera causa de muerte por cáncer en mujeres mexicanas. La expresión de receptor a estrógenos (ER α) es un marcador muy importante, predictivo para la respuesta a la terapia endocrina. La pérdida de este receptor es de mal pronóstico en esta enfermedad. La metilación del ADN es un importante regulador de la transcripción genética y se ha observado en diferentes poblaciones que la represión de este receptor es el resultado de la metilación de las islas CpG del promotor del gen ESR1. Es muy importante conocer y continuar explorando la función y los efectos relacionados a este gen, pues entender lo que pasa con él y sus alrededores moleculares nos apoyará para entender el mecanismo de la enfermedad, herramientas diagnósticas y pronósticas.

Palabras clave. Cáncer de mama, metilación del ADN, regulación transcripcional, ESR1.

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is an issue of public health in México due to its frequency and mortality rate. BC is the first cause of death in Mexican female population. The changes in expression of the estrogen receptor alpha (ER α) are important hallmarks that predict the response to endocrine therapy. Absence of this receptor is conditioning for a bad prognosis of BC. DNA methylation is an important regulatory pathway for gene transcription, studies in diverse populations had revealed that its repression is the result of methylation of CpG islands on the promoter of ESR1 gene. To know and explore function and molecular effects of this gene is very important, because if we understand about it, we can propose new mechanisms of the disease and possible diagnostic and prognostic tools.

Key words. Breast cancer, DNA methylation, transcriptional regulation, ESR1.

INTRODUCCIÓN

En México y a nivel mundial el cáncer de mama es la primera causa de muerte por enfermedad neoplásica en mujeres.¹ La incidencia del cáncer de mama se incrementa con la edad, duplicándose aproximadamente cada 10 años hasta la menopausia. La exposición acumulativa a diversos factores durante la vida determina el nivel de riesgo de la mujer para desarrollar esta enfermedad, incluyendo la exposición a hormonas, menarquía temprana, menopausia

tardía, nuliparidad, embarazo a término después de los 30 años y los antecedentes heredofamiliares, entre otros.²

El cáncer es el resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales (físicos, químicos y biológicos) que producen la degeneración de las células, dando cabida a lesiones precancerosas y, finalmente, a tumores malignos.³ Una de las características principales que definen al cáncer es su crecimiento y división incontrolados de células que han escapado de los mecanismos normales de regulación del ciclo celular, tales células son también conocidas como células transformadas, que en el curso de la carcinogénesis adquieren un fenotipo maligno. Característicamente, las células transformadas en cultivo continúan dividiéndose bajo condiciones en donde las células normales se convertirían en quiescentes, es decir,

* Dirección de Investigación, Hospital Juárez de México. Secretaría de Salud.
** Servicio de Reumatología, Hospital Juárez de México. Secretaría de Salud.
*** Servicio de Neurocirugía, Hospital Juárez de México. Secretaría de Salud.

detendrían su crecimiento por inhibición al contacto intercelular, o bien, cuando los nutrientes o factores de crecimiento se han agotado del medio.⁴ Existe una variedad de otros procesos biológicos que conducen a cambios en el patrón de crecimiento celular, entre los que se encuentran los denominados cambios epigenéticos. En el presente trabajo se revisa a la metilación del ADN como uno de los eventos epigenéticos relevantes en el desarrollo del cáncer de mama.

EPIGENÉTICA

La epigenética se describe como la alteración de la expresión de los genes mediada por cambios que no alteran la secuencia nucleótida de los mismos, evento que usualmente tiene lugar durante el desarrollo y la proliferación celular. La metilación del ADN es una de tales modificaciones que resulta de la adición de un grupo metilo (-CH₃) en el carbono 5 de la citosina.³ La adición de este grupo metilo ocurre predominantemente en dinucleótidos CpG, o bien, en regiones llamadas islas CpG, las cuales son fragmentos del genoma en los que los residuos GpC y CpG son abundantes, de 1 kilobase (1Kb) de longitud y que se localizan generalmente en los promotores génicos.⁵

METILACIÓN DEL ADN EN CÉLULAS NORMALES

La metilación del ADN es esencial para el desarrollo celular normal dado que interviene en la estabilidad de los cromosomas, el mantenimiento de los estados de expresión de los genes y el mantenimiento de la longitud adecuada de los telomeros.^{6,7} La consecuencia más importante de la adición de grupos metilo es el silenciamiento o apagamiento de los genes. La transferencia del grupo metilo a la citosina de los dinucleótidos CpG es catalizada por la enzima metiltransferasa (DNMT1) que crea o sostiene los patrones de metilación. Existen tantos patrones de metilación como conjuntos de secuencias CpG o GpC se encuentren en el ADN preservado por una célula u organismo; a tal conjunto de modificaciones por metilación únicas se le conoce como metiloma. En el humano, el metiloma haploide se compone aproximadamente de 28,233,094 dinucleótidos CpGs, de los cuales 70% se encuentra metilado en las células normales⁸ y los patrones normales de metilación varían entre los individuos.^{9,10} El mapeo de alta resolución del metiloma, idealmente en una sola isla CpG, puede proporcionar una nueva vía para la comprensión de las enfermedades o la susceptibilidad de factores que podrían utilizarse para la detección de individuos en situación de riesgo.¹¹

METILACIÓN DEL ADN EN CÁNCER

Durante el desarrollo del cáncer existen alteraciones en la expresión de genes cuyos productos normalmente son capaces de inhibir el crecimiento celular (supresores de tumor), o bien, de exacerbar la replicación de las células (oncogenes). Los mecanismos epigenéticos son importantes tanto en términos de silenciamiento de genes supresores de tumores como en la activación de los oncogenes. Ambos eventos se producen a través de cambios en la configuración de la cromatina que modifican la accesibilidad al genoma de diversas proteínas reguladoras, tales como los factores de transcripción, y que por lo tanto, cambian la expresión génica.¹² Frecuentemente, la metilación de las islas CpG se evalúa en genes conocidos por jugar papeles importantes en el desarrollo tumoral, en especial cuando tales tumores no presentan cambios en la secuencia de los genes.¹³ En general, la metilación aberrante de las islas CpG tiende a ser focal, esto es, afectando a un solo gen, pero no a sus vecinos.¹⁴ Los genes más susceptibles a ser metilados en las islas CpG son los involucrados en la regulación del crecimiento celular, por lo que las células que carecen de éstos podrían tener una ventaja de crecimiento.⁵

Estas alteraciones epigenéticas son muy frecuentes y particularmente importantes en neoplasias en humanos porque pueden explicar la participación de agentes ambientales en la tumorogénesis como la dieta y la exposición a carcinógenos, afectando diversas vías carcinogénicas simultáneamente.¹⁵

RECEPTOR PARA ESTRÓGENOS α

Uno de los genes que son susceptibles de ser metilados es el *ESR1*, el cual codifica para el receptor para estrógenos alfa (ER- α).¹⁶ El estrógeno y sus receptores son reguladores fundamentales de la homeostasis de las células epiteliales de la mama, interviniendo en procesos como proliferación, diferenciación y apoptosis.¹⁶ La metilación excesiva o hipermetilación de las áreas ricas en citosinas en los promotores se ha asociado con la inactivación de genes.

Además, patrones de metilación anormales se han detectado con frecuencia en muestras de cáncer.¹⁷ En el cáncer de mama hormono-dependiente, los estrógenos pueden regular el crecimiento de las células mamarias, mediante la unión a su receptor. Esto significa que la exposición a estas hormonas puede incrementar la proliferación celular. En contraste, cuando se pierde la expresión del ER α significa que el crecimiento de las células cancerosas de mama no podrá ser regulado por los estrógenos y, por consiguiente, no podrán ser tratadas por terapia endocrina.² Dos terceras partes de los tumores de

**Cuadro 1.** Contribución de la epigenética a la investigación en cáncer (adaptado de Esteller, 2011).²²

Área	Estudia	Información	Ejemplo
Diagnóstico	Marcadores epigenéticos del ADN.	* Patrones de metilación * Marcas de histonas	El gen GSTP1 en cáncer de próstata
Pronóstico	Cambio de los marcadores epigenéticos a través del tiempo	Patrones comparativos	El gen P16INK4a en cáncer de colon
Farmacogenética	Perfiles de metilación y expresión de genes	Panorama completo para predecir la respuesta a medicamentos	El gen MGMT en glioma
Blancos terapéuticos	* Marcas epigenéticas (ADN/histonas). * Proteínas modificadoras de la cromatina	* Agrega/lee/remueve marcas epigenéticas * Marcas epigenéticas	5-azacitidina

GSTP1: glutatión S transferasa P. MGMT: O6-metilguanina-DNA metiltransferasa.

Cuadro 2. Porcentaje de metilación del gen ESR1 en pacientes con cáncer de mama entre diferentes poblaciones.

Población	Metilación (%)	Referencia
Indias	9	Prabhu y cols. 2012
Polacas	13	Gaudet y cols. 2010
Austriacas	37	Widschwendter y cols. 2004
Iraníes	41.7	Ramezani y cols. 2012
Chinas	39.1	Zhao y cols. 2008
Estadounidenses	49.2	Wei y cols. 2008

mama expresan ER- α , y los efectos biológicos de esta vía están directamente involucrados en el desarrollo del cáncer de mama y la progresión.¹⁸ Se ha observado que la expresión de ER- α se ha perdido durante la progresión del cáncer en tumores de mama,⁴ lo que nos priva de una importante posibilidad de atención de los pacientes por el tratamiento hormonal y aumenta la mala evolución clínica.⁵ Un mecanismo que podría explicar la falta de ER es el mecanismo epigenético de la hipermetilación de dinucleótidos CpG en la región promotora. Los estudios realizados en líneas celulares de cáncer de mama han demostrado que la metilación del promotor ESR1, el gen que codifica para la ER- α , se asocia con disminución de la expresión de ER- α ARNm y proteínas.¹⁹

Los análisis de muestras representativas de los casos de cáncer de mama son importantes para definir con más detalle las relaciones entre la metilación del ADN y la expresión del receptor de la hormona, las características del tumor, y los factores de riesgo.²⁰

Los patrones asociados a la hipermetilación de las islas CpG con el cáncer son de tipo específico de tumor y contribuyen decisivamente a la génesis y desarrollo del cáncer humano. Además de proporcionar una mejor comprensión del cáncer a nivel molecular, ¿qué espera la epigenética contribuir a la investigación del cáncer? La epigenética ya ha revelado biomarcadores de diagnóstico útiles (GSTP1 en cáncer de próstata) y biomarcadores de pronóstico. Ésta ha sido una revelación para los oncólogos y hematólogos, como las células transformadas con los patrones de hipermetilación específicas en ciertos genes han resultado ser biomarcadores fiables para los tipos y etapas del cáncer en particular (Cuadro 1). Otro uso inestimable de marcadores epigenéticos es en la predicción de respuestas a los agentes de quimioterapia particulares.^{21,22}

En lo que se refiere a la metilación de ESR1 en cáncer de mama, se han realizado estudios en diferentes poblaciones, encontrando diferencias en el porcentaje de metilación entre las mismas (Cuadro 2). En México, a saber de los autores, el patrón de metilación del gen ESR, particularmente en pacientes con cáncer de mama, no ha sido reportado. Conocer el estado de metilación de este gen en nuestra población permitirá establecer patrones de respuesta a fármacos quimioterapéuticos y brindará información especializada en pacientes mexicanas.

La investigación en el área de epigenética es crucial para continuar avanzando en el conocimiento de enfermedades tan complejas como el cáncer, y especialmente en enfermedades con tanto impacto en la salud nacional y a nivel

mundial. El siguiente paso es integrar la información con otras áreas de estudio y así complementar el conocimiento para mejorar la calidad de vida de la población a corto plazo.

REFERENCIAS

1. OMS, Consulta interactiva de datos. Datos y estadísticas. 2008. Disponible en: www.who.int/es. Consultado en 2014.
2. Huicochea S, González P, Tovar I, Olarte M, Vázquez J. Cáncer de mama. Anales de Radiología México 2009; 1: 117-26.
3. INEGI. Consulta interactiva de datos. Estadísticas y mortalidad. 2009. Disponible en: www.inegi.com. Consultado en 2014.
4. Norman R, Lodwick D. Flesh and bones of medical cell biology. 1st Ed. Edinburgh: Elsevier; 2007, p. 132.
5. Giacinti L, Claudio P, Lopez M, Giordano A. Epigenetic information and estrogen receptor alpha expression in breast cancer. Oncologist 2006; 11(1): 1-8.
6. Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. Cell 1999; 99(3): 247-57.
7. Trasler JM, Trasler DG, Bestor TH, Li E, Ghibu F. DNA methyltransferase in normal and Dnmt/Dnmt mouse embryos. Dev Dyn 1996; 206(3): 239-47.
8. Rollins RA, Haghghi F, Edwards JR, Das R, Zhang MQ, Ju J, et al. Large-scale structure of genomic methylation patterns. Genome Res 2006; 16(2): 157-63.
9. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102(30): 10604-9.
10. Sandovici I, Kassovska-Bratinova S, Loredo-Osti JC, Leppert M, Suarez A, Stewart R, et al. Interindividual variability and parent of origin DNA methylation differences at specific human Alu elements. Hum Mol Genet 2005; 14(15): 2135-43.
11. Romulo M, Joseph F. Genome-epigenome interactions in cancer. Hum Mol Genet 2007; 16 spec (R1): R96-R105.
12. Stefansson O, Esteller M. Epigenetic modifications in breast cancer and their role in personalized medicine. Am J Pathol 2013; 183(4): 1052-63.
13. Kissil JL, Feinstein E, Cohen O, Jones PA, Tsai YC, Knowles, et al. DAP-kinase loss of expression in various carcinoma and B-cell lymphoma cell lines: possible implications for role as tumor suppressor gene. Oncogene 1997; 15(4) : 403-7.
14. Akama TO, Okazaki Y, Ito M, Okuzumi H, Konno H, Muramatsu M, et al. Restriction landmark genomic scanning (RLGS-M)- based genome-wide scanning of mouse liver tumors for alterations in DNA methylation status. Cancer Res 1997; 57(15): 3294-9.
15. Roa J, Anabalón L, Tapia O, Martínez J, Villaseca M, Guzmán P, et al. Patrón de metilación génico en el cáncer de mama. Rev Méd Chile 2004; 132: 1059-77.
16. Ramezani F, Salami S, Mir O, Davood M. CpG Island Methylation Profile of Estrogen Receptor Alpha in Iranian Females with Triple Negative or Non-triple Negative Breast Cancer: New Marker of Poor Prognosis. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13(2): 451-7.
17. Sasaki M, Tanaka Y, Perinchery G, Dharia A, Kotcheruina I, Figimoto SI, et al. Methylation and Inactivation of Estrogen, Progesterone, and Androgen Receptors in Prostate Cancer. J Natl Cancer Inst 2002; 94(5): 384-90.
18. Lopez T, Schiff R. The Dynamics of estrogen receptor status in breast cancer: re-shaping the paradigm. Clin Cancer Res 2007; 13(23): 6921-5.
19. Prabhu JS, Wahi K, Korlimarla A, Correa M, Manjunath SN, et al. The epigenetic silencing of the estrogen receptor (ER) by hypermethylation of the ESR1 promoter is seen predominantly in triple-negative breast cancers in Indian women. Tumor Biol 2012; 33(2): 315-23.
20. Gaudet MM, Campan M, Figueroa JD, Yang XR, Lissowska J, Peplonska B, et al. DNA hypermethylation of ESR1 and PGR in breast cancer: Pathologic and Epidemiologic Associations. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2009; 18(11): 3036-43.
21. Das PM, Singal R. DNA Methylation and Cancer. J Clinical Oncol 2004; 22(22): 4632-42.
22. Esteller M. Epigenetic changes in cancer. F1000 Biology Reports 2011; 3: 9.

Solicitud de sobretiros:

Olga Beltrán Ramírez
Dirección de Investigación
Hospital Juárez de México
Av. Instituto Politécnico Nacional, Núm. 5160
Col. Magdalena de las Salinas
Tel.: 5747-7560
Correo electrónico: obeltranr@gmail.com