

Metilación del ADN: marcador diagnóstico y pronóstico de cáncer

Viviana Matilde Mesa-Cornejo,^a Patricio Barros-Núñez^{a,b} y Claudina Medina-Lozano^{a,b,*}

^a Departamento de Genética Humana, Universidad de Guadalajara; ^b División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jal., México

La metilación del ADN es un proceso epigenético que participa en la regulación de la expresión génica de dos maneras, directamente al impedir la unión de factores de transcripción, e indirectamente propiciando la estructura "cerrada" de la cromatina¹. El ADN presenta regiones de 1000-1500 pb ricas en dinucleótidos CpG ("islas CpG"), que son reconocidas por las enzimas ADN-metiltransferasas, las cuales, durante la replicación del ADN metilan el carbono 5 de las citosinas de la cadena recién sintetizada, manteniéndose así la memoria del estado metilado en la molécula hija de ADN.^{1,2} En general se considera que la metilación es un proceso unidireccional, de esta manera, cuando una secuencia CpG adquiere metilación *de novo*, esta modificación se hace estable y es heredada como un patrón de metilación clonal. Por otra parte, la pérdida de metilación genómica (hipometilación), como evento primario, se asocia frecuentemente con el proceso neoplásico y es proporcional a la severidad de la enfermedad.³

Los genomas de las células preneoplásicas, cancerosas y envejecidas comparten tres cambios importantes en los niveles de metilación, como eventos tempranos en el desarrollo de algunos tumores. Primero, la hipometilación de la heterocromatina que conduce a una inestabilidad genómica e incrementa los eventos de recombinación mitótica; segundo, hipermetilación de genes individuales y, finalmente hipermetilación de las islas CpG de genes constitutivos y genes tumor supresor.¹⁻⁴ Los dos niveles de metilación pueden presentarse en forma individual o simultánea, en general, la hipermetilación está involucrada con el silenciamiento de genes y la hipometilación con la sobre-expresión de ciertas proteínas involucradas en los procesos de invasión y metástasis.⁴

Las estrategias metodológicas para el análisis del estado metilado de las islas CpG han estado en constante evolución y actualmente se cuenta con diversas técnicas que comparten estándares universales, óptima sensibilidad y reproducibilidad². El éxito de la mayoría de los métodos depende de la transformación química de las citosinas no metiladas a uracilos, por el tratamiento con bisulfito de sodio, que no afecta las 5-metilcitosinas, y marca de forma fidedigna e individual

el estado metilado o no metilado de los dinucleótidos CpG. La modificación del ADN, su amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o secuenciación automatizada son las técnicas más usadas con este propósito.

En los últimos años la tecnología basada en el análisis del ADN metilado es considerada una poderosa herramienta para el diagnóstico, terapia y pronóstico de enfermedad, así como en el campo de la medicina forense, farmacogenética y en estudios epidemiológicos. La asociación entre el estado hipometilado del ADN y cáncer, y posteriormente su relación con la hipermetilación, se conocen desde 1983; sin embargo, en los últimos cinco años, por el impulso de las nuevas estrategias moleculares para el estudio de la metilación *de novo* de las islas CpG, el análisis del ADN metilado se ha convertido en un poderoso biomarcador para la detección temprana de cáncer;³ además, permite clasificar los cánceres considerando los subtipos histológicos, el grado de malignidad, diferencias en la respuesta al tratamiento y, los diversos pronósticos.⁴ Una importante y reciente aplicación es precisamente su uso como biomonitor de respuesta a la terapia y predictor del pronóstico del cáncer.²

En la actualidad, los cánceres de próstata, hígado, estómago, colon y mama son detectados, con alta especificidad, utilizando ADN obtenido de fluidos corporales (orina, plasma, suero, saliva, entre otros), sangre o biopsias de tejidos, mediante el análisis de la hipermetilación de genes, cuyos productos tienen diversas funciones como: proteínas tumor supresor (*INK4A*, *INK4B*, *APC*), enzimas (*GSTP1*, *MGMT*, *DAPIK1*), receptores (*RARB*), asociadas a muerte celular programada (*DAPIK1*), adhesión celular (*CDH1*), y reguladoras de cinasas (*CCND2*)² (Cuadro 1).

Recientemente, Guo y colaboradores mediante la variación de los patrones de metilación de 38 genes demostraron que los linfomas de células B pequeñas pueden distinguirse en los subtipos: leucemia linfocítica crónica de células B, linfoma de células de mantle y linfoma folicular grado I y II.⁵

La metilación del ADN es un marcador epigenético del silenciamiento de genes con aplicación en diversos campos de investigación de la genética y la biomedicina, que median-

* Correspondencia y solicitud de sobretiros: Claudina Medina Lozano. Sierra Mojada 800. Col. Independencia, CP 44340. Guadalajara, Jalisco, México. Correo electrónico: claudinamedina@hotmail.com

Cuadro I. Especificidad de los marcadores de metilación de ADN en la detección de diversos cánceres

Tipo de cáncer	Gen marcador	Fuente de ADN	Especificidad%
Próstata	<i>GSTP1</i>	Plasma / Suero	100
		Plasma	100
		Leucocitos	100
		Sedimento urinario	98 – 100
		Semen	100
		Lavado de biopsia	100
		Orina	97
Vejiga	<i>CDKN2A</i> <i>CDH1</i> <i>DAPK1</i> <i>RARB</i>	Suero	100
		Sedimento urinario	100
		Sedimento urinario	100
		Sedimento urinario	76
Pulmón	<i>CDKN2A</i> <i>DAPK1</i>	Plasma	100
		Espujo	100
		Lavado bronco alveolar	100
		Aspirado	100
		Lavado Bronquial	100
		Epitelio Bronquial	100
		Espujo	65
		Epitelio bronquial	90
		Espujo	78
		Suero / Plasma	100
Estómago	<i>APC</i> <i>CDKN2A</i> <i>INK4B</i> <i>DAPK1</i> <i>GSTP1</i>	Suero	100
		Suero	100
		Suero	100
		Suero	100
		Suero	100
Hígado	<i>CDKN2A</i> <i>CDKN2B</i>	Suero / Plasma	100
		Suero / Plasma	100
		Suero / Plasma	100
Mama	<i>CCND2</i> <i>RARB</i> <i>TWIST</i>	Aspirado	93
		Aspirado	96
		Aspirado	100
		Aspirado	100
Cabeza - cuello	<i>CDKN2A</i> <i>DAPK1</i> <i>MGMT</i>	Saliva	97
		Saliva	100
		Saliva	97
		Suero	100
Colorectal	<i>CDKN2A</i>	Plasma	100
Adenocarcinoma Esofágico	<i>APC</i>	Plasma	100
Carcinoma de células escamosas	<i>APC</i>	Plasma	100

APC: supresor de poliposis-adenoma, *CCND2*: ciclina D2, *CDH1*: caderina 1, *DAPK1*: proteína cinasa 1 de muerte celular programada, *CDKN2A/2B*: inhibidor de ciclina cinasa dependiente 2A/2B, *GSTP1*: glutatión S-transferasa P1, *MGMT*: O6-metil guanina DNA metiltransferasa, *RARB*: receptor beta del ácido retinoico, *TWIST1*: factor de transcripción determinante de linaje celular.

te la aplicación de procesos metodológicos moleculares permite la distinción fidedigna e individual de los patrones de metilación de las islas CpG. Es indiscutible el impacto del uso de biomarcadores de metilación en la detección oportuna de un gran número de cánceres humanos cuando se encuentran en estadios tempranos, lo cual incide en la planeación de una estrategia terapéutica específica. Por otra parte, de acuerdo a las características de metilación de los genes involucrados en la neoplasia permite la clasificación y el pronóstico de los cánceres, y el biomonitorio del tratamiento.

Referencias

1. Salozhin SV, Prokhorchuk EB, Georgiev GP. Methylation of DNA of the Major Epigenetic Markers. Biochemistry. 2005;70:525-532.
2. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. Nature Rev Genet. 2003;3:253-266.
3. Robertson KD. DNA methylation and human disease. Nature Rev Genet. 2005;6:597-610.
4. Schulz W. Qualified Promised: DNA methylation assays for the detection and classification of human cancers. J. Biomed Biotechnol. 2005;3:227-229.
5. Guo J, Burguer M, Nimmrich I, Maier S, Becker E, Gene B, et al. Differential DNA methylation of gene promoters in small B-cell lymphomas. Am J Clin Pathol. 2005;124:430-439.