

ANÁLISIS DE LA METILACIÓN DEL ADN COMO PARTE DEL DIAGNÓSTICO GENERAL DEL CÁNCER DE MAMA

Karla Elizabeth Flores Martínez*

Rafael González Álvarez**

Frutos Rojos (fragmento)

Resumen

Un mecanismo epigenético es un sistema que utiliza selectivamente la información contenida en el ADN, a través de la activación e inactivación de genes funcionales. Uno de estos mecanismos es la hipermetilación mediante la cual se regula la transcripción de los genes, que en última instancia trae como resultado el silenciamiento de los genes encargados de la supresión de tumores, lo que a su vez constituye un evento altamente frecuente en el desarrollo y la progresión tumoral. Por ello, el diseñar un método de análisis de hipermetilación del gen supresor de tumores BRCA, característico por su presencia en el cáncer de mama, que potencialmente forme parte del diagnóstico estándar utilizado para la detección de este padecimiento, representa una alternativa para la identificación temprana del mismo.

Palabras clave: epigenética, ADN, hipermetilación, cáncer de mama. ■

Introducción

Nuestro cuerpo está construido por una gran cantidad de tipos de células, que a su vez tienen una colección

*Estudiante de Ingeniería en Biotecnología, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, campus Guadalajara.

**Profesor Investigador en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, campus Guadalajara, División de Biotecnología y Salud, SNI nivel I.
rgonzaleza@itesm.mx

de proteínas necesarias para el funcionamiento de las mismas, igualmente variadas. Sin embargo, todas las células en nuestro organismo contienen la misma información genética, codificada en el ADN. A partir de esta información, las células crean información epigenética, que les permite regular el uso de ciertos genes en particular. Así, un mecanismo epigenético puede ser entendido como un sistema complejo para utilizar selectivamente la información genética, activando y desactivando diversos genes funcionales (Wolffe y Matzke, 1999).

Uno de los mecanismos que desempeña una función clave en la regulación génica es la modificación química del ADN, específicamente mediante la adición o eliminación de grupos metilo a sus bases, siendo esto parte de los principales mecanismos de inactivación epigenética. De manera general, la metilación del ADN consiste en unir covalentemente grupos metilos (-CH₃) a algunas de las bases de citosinas situadas previa y contiguamente a una guanina. Esta metilación es catalizada por enzimas denominadas ADN metiltransferasas. A su vez, estos segmentos de bases citosinas y guaninas, conocidos como islas CpG (Citosina unida a Guanina), se concentran especialmente en la región promotora de los genes, una región localizada en los extremos 5' terminales de los genes. Es en esta región donde se encuentra la información necesaria para activar o desactivar el gen en cuestión (Klug *et al.*, 2006).

Una metilación anormal en la región promotora de los genes supresores de tumores cuya función es protegernos contra la proliferación tumoral incontrolada; es un evento conocido

como la hipermetilación, dicho evento es altamente frecuente en el desarrollo y la progresión tumoral. Por lo que un análisis de hipermetilación en la región promotora podría ser muy útil en el diagnóstico temprano del cáncer ya que, aunque es una enfermedad en la que predominan anomalías genéticas, ciertas alteraciones epigenéticas comparten un papel protagónico en su desarrollo (Lagos y Soto, 2007).

Podría ser muy útil en el diagnóstico temprano del cáncer

Debido a que la hipermetilación ocurre tempranamente durante la carcinogénesis y puede ser detectada con un alto grado de sensibilidad, su estudio constituye un método de detección precoz de la patología tumoral y ha sido utilizada especialmente en los últimos años al considerarse una poderosa herramienta para el diagnóstico temprano, terapia y pronóstico de tumores. Ahora bien, tomando en cuenta que el silenciamiento epigenético es potencialmente reversible, un análisis de hipermetilación en genes supresores pudiera significar una mitigación temprana del desarrollo cancerígeno. Incluso algunos fármacos que inducen la desmetilación del ADN pueden conducir a la re-expresión de genes silenciados, recuperándose así su función original. Estos fármacos se incorporan al ADN inhibiendo irreversiblemente la actividad de las ADN metiltransferasas y así previenen la hipermetilación de las islas CpG. Uno de los genes supresores de tumores más estudiados es el BRCA, cuyas variantes se han asociado con el

cáncer de ovario, de trompas de Falopio y de mama. Dichos padecimientos son difícilmente diagnosticados en su etapa inicial, haciendo mucho más difícil la supresión eficaz y completa de los mismos (Meza *et al.*, 2006).

Existen diversas pruebas para la detección de cáncer

Por ello, el presente artículo hace una revisión de la técnica de la PCR con bisulfito de sodio, como una herramienta utilizada para determinar la hipermetilación del gen BRCA. De manera conjunta, también se menciona la técnica de inmunohistoquímica, como apoyo a la PCR con bisulfato de sodio, debido a que el uso de las dos técnicas conlleva a un diagnóstico más certero y específico. La técnica de inmunohistoquímica consiste en la toma de una biopsia del tejido afectado, a fin de realizar un estudio a nivel celular que permita conocer la actividad de la enzima ADN metiltransferasa. Por otro lado, el principio de la PCR con bisulfito de sodio, se basa en hacer reaccionar el ADN con dicho reactivo, mismo que transformará a las citosinas no metiladas en uracilos. Lo anterior es debido a que la metilación protege a las citosinas de esta transformación. Es así como al concluir la PCR con bisulfito de sodio, se tienen dos tipos de ADN resultantes. Uno, en caso de estar metilado el ADN, este conservará citosinas; mientras que el ADN no metilado, mostrará uracilos.

Así bien, en caso de presentarse una hipermetilación en el gen BRCA, esto constituirá un indicador de mal pronóstico hacia el desarrollo de cáncer de mama. Además, dicho análisis podría resultar en una mitigación más eficaz del padecimiento en un estado inicial, algo que sin la inclusión y realización de dicha prueba no sería posible (Dorantes *et al.*, 2004).

Cuantificación de la metilación

Existen diversas pruebas para la detección de cáncer, como: biopsias, análisis de sangre y urea, tomografía o rayos X de baja intensidad; sin embargo, dichas pruebas tienden a detectar el cáncer en un estado considerablemente avanzado, lo cual repercute en el éxito del tratamiento. Por lo tanto, los métodos revisados en este artículo, plantean el diagnóstico de tumores mediante un análisis del nivel de metilación en el ADN cuantificando la actividad enzimática (inmunohistoquímica) apoyada con la técnica de PCR con bisulfito de sodio, de manera que se complementen y nos brinden un resultado con mayor precisión, en conjunto con el



procedimiento estándar de diagnóstico (Dorantes *et al.*, 2004).

Discusión

El cáncer constituye una enfermedad de suma importancia e impacto en la actualidad, en gran parte debido a sus consecuencias; sin embargo, ciertos tipos de cáncer representan un mayor peligro todavía debido al progresivo y rápido avance de sus consecuencias; como es

La utilización de métodos que resulten rápidos y eficientes

el caso del cáncer de mama, de ovario y de trompas de Falopio. Especialmente en este tipo de padecimientos, la eficacia del tratamiento depende en gran medida del estadio tumoral: es mayor la supervivencia, cuando antes se realice el diagnóstico temprano. Este hecho justifica la innegable necesidad de un diagnóstico precoz mediante la utilización de métodos que resulten rápidos y eficientes. No obstante, las nuevas técnicas empleadas en el diagnóstico pueden resultar demasiado costosas o poco sensibles para permitir una detección temprana. Es por ello que esta revisión se basa en el empleo de marcadores accesibles y sencillos, fácilmente utilizables como parte de un diagnóstico estándar, sobre todo al tratarse de pacientes de alto riesgo. Además, y a pesar de que se trata de un alcance hasta cierto grado hipotético, los métodos mencionados y descritos con anterioridad juegan un papel de gran importancia en procedimientos genéticos de gran renombre en la actualidad. Por ello decidimos estructurarlos de manera que

pudieran dar respuesta a la problemática que representa el diagnóstico desde un alcance totalmente epigenético y preventivo, sobre todo al tratarse de este tipo de padecimientos.

Indudablemente, el cáncer es una enfermedad que depende en un amplio sentido de la etapa en la cual es diagnosticado, sobre todo al tratarse de aquellos de tipo ginecológico; por esta razón es necesaria la implementación de técnicas que promuevan una detección temprana, que dé pie a la mitigación del padecimiento en sus primeras etapas. No obstante, al ser un padecimiento tan común dentro de la población actual, es igualmente importante el abrir paso a nuevos métodos accesibles y con participación factible dentro del diagnóstico estándar. Por ello que se plantea la necesidad de llevar estas técnicas (aún no aprobadas como método diagnóstico), a la práctica clínica donde podrían lograr resultados favorables y en pro de personas que padecen o están en riesgo de padecer esta terrible enfermedad.

Conclusión

Desde hace tiempo, y especialmente en la actualidad, el campo de la epigenética se encuentra en constante evolución, lo que a su vez representa una mayor cantidad de avances a favor de la salud humana; sin embargo, a fin de que muchos de estos cambios y procedimientos sean implementados de manera clínica como biomarcadores en el diagnóstico del cáncer de mama, es necesario que se realicen las pruebas experimentales que permitan validar estos procesos como parte de un diagnóstico estándar. Además, y como ya se repasó en este artículo, la

estrecha relación entre el mecanismo epigenético de la hipermetilación y el desarrollo del cáncer de mama, aunado a la relativa trivialidad y bajo costo de estas técnicas, constituyen uno de los

principales incentivos al momento de continuar las pruebas de validación que resulten en la inclusión de este análisis al resto del diagnóstico. ■

REFERENCIAS ■

Dorantes, M., Téllez, N., & Cerbón, M. (2004) "Metilación del DNA: un fenómeno epigenético de importancia médica". *Revista de Investigación Clínica*, 6(1), 56-7 Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0034-83762004000100010&script=sci_arttext

Klug, W., Cummings, M., & Spencer, C. (2006) *Conceptos de genética*. (2da ed., Vol. 2, p. 920). Madrid: Pearson Educación.

Lagos, E., & Soto, T. (2007) "Epigenética y cáncer." *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*, 64(580), 177-182.

Meza, V., Barros, P., & Medina, C. (2006) "Metilación del adn: marcador diagnóstico y pronóstico de cáncer." *Gaceta Médica de México*, 142(1), Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0016-38132006000100015&script=sci_arttext

Wolffe, A., & Matzke, M. (1999) "Epigenetics: regulation through repression." *Science*, 6, 286-481.