

MICRORNAs: NUEVOS MARCADORES DE INTERÉS EN ONCOLOGÍA

Ginés Luengo Gil

Servicio de Hematología y Oncología Médica, Hospital Universitario Morales Meseguer, Centro Regional de Hemodonación y Departamento de Medicina Interna. Universidad de Murcia.

E-mail: gines.luengo@um.es

Abreviaturas utilizadas¹

El cáncer y la oncología traslacional

El cáncer es a día de hoy la segunda causa principal de muerte por enfermedad en España, representando aproximadamente un veinticinco por ciento del total. Gracias a los avances en detección, diagnóstico y tratamiento del cáncer se ha logrado elevar el índice de supervivencia en muchos tipos de carcinomas. Según la American Cancer Society, en 2011 el 68 % de los pacientes diagnosticados de cáncer estarán vivos cinco años después del diagnóstico.

Se denomina cáncer, carcinoma, o tumor maligno a un grupo de enfermedades relacionadas que tienen su origen en las células propias del organismo, sus constituyentes básicos. En condiciones normales, las células de un organismo pluricelular crecen de forma armónica y ordenada, controladas por una serie de mecanismos complejos de comunicación entre células vecinas y a distancia, de manera que se da un equilibrio entre crecimiento y muerte celular que permiten el mantenimiento de la estructura y morfología típica de cada individuo. En determinadas situaciones, tales como daño producido por una agresión, se permite un crecimiento acelerado para su reparación, aunque este proceso también está finamente controlado. Eventualmente y debido a causas que pueden ser genéticas, por estilos de vida, o por factores ambientales, se producen alteraciones en los genes que regulan procesos esenciales de las células. La acumulación de mutaciones sucesivas en estos genes reguladores puede provocar la adquisición de características como crecimiento descontrolado, evasión de la apoptosis, insensibilidad a señales inhibitoras del crecimiento, potencial de crecimiento ilimitado y capacidad angiogénica, de manera que en un determinado momento la célula escapa al control que el organismo ejerce sobre ella. Además de este crecimiento descontrolado, con el avance de la enfermedad las células pueden experimentar aún más cambios en genes reguladores, que les pueden dotar de capacidad migratoria, pudiendo entonces escapar del tejido donde se originaron y migrar vía sanguínea o linfática a otros tejidos y órganos que invadir y donde seguir creciendo de forma descontrolada. A este proceso de invasión de otros órganos desde el foco primario de origen se le denomina metástasis.

El estudio básico de todos los procesos moleculares implicados en la malignización celular y su posterior evolución es clave para conocer su origen y sus propiedades, permitir su prevención, su diagnóstico eficaz y también para diseñar nuevas estrategias terapéuticas más eficaces. El carácter multifactorial de la enfermedad, la heterogeneidad en el comportamiento biológico y clínico de los tumores y los factores individuales hacen necesaria la individualización del tratamiento para cada neoplasia y cada individuo, lo que se denomina medicina personalizada.

El cáncer en buena parte es una de las consecuencias del aumento de la esperanza de vida de las sociedades modernas, ya que aparece mayoritariamente en individuos adultos de más de cuarenta años. En este punto cabe reseñar que la esperanza de vida de las comunidades humanas paleolíticas, anteriores a la civilización, era menor de treinta años, por lo que la incidencia de esta enfermedad en aquella época debió ser mínima. Con el aumento de la esperanza de vida humana, la incidencia de cáncer se hace cada vez mayor, y con ese aumento, los costes de su tratamiento se hacen cada vez más difíciles de asumir por parte de las sociedades avanzadas. Es por ello necesario conocer los factores de riesgo que aumentan la predisposición a padecer un determinado cáncer, y en consecuencia diseñar estrategias de prevención, y también de diagnóstico precoz adecuadas.

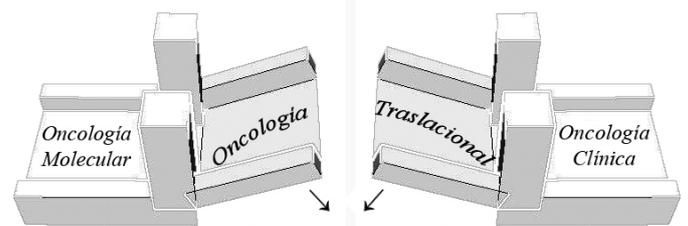


Figura 1. Oncología Traslacional. Disciplina joven que trata de unificar esfuerzos entre la investigación oncológica básica en el laboratorio y la investigación oncológica clínica en el hospital.

Pero cuando la prevención y diagnóstico precoz fallan, la investigación clínica con seguimiento de los pacientes se hace vital para determinar, según sus características, que evolución podrá tener la enfermedad. Conocer factores predictivos de respuesta al tra-

1

HER2: Cúmulo de diferenciación CD340 y p185, conocido también como ErbB2, oncogén localizado en el cromosoma 17. RNA: Ácido Ribonucleico. miRNA: microRNA. UTR: En un gen, región no traducida (del inglés UnTranslated Region). mRNA: RNA mensajero. VEGF: del inglés, Vascular Endothelial Growth Factor. VEGFR: Receptor de VEGF. PDGF: del inglés, Platelet Derived Growth Factor. PDGFR: Receptor de PDGF. CXCL12: También conocido como SDF-1, del inglés, Stromal Cell-Derived Factor-1. F3: Factor 3, Factor Tisular de tromboplastina. CTGF: del inglés, Connective Tissue Growth Factor. HIF1alfa: del inglés, Hypoxia-Inducible Factor 1.

tamiento, probabilidad de recaída tras tratamiento, esperanza de vida posterior de los pacientes, etcétera. Y es aquí, en este punto entre investigación básica y clínica, donde surge una disciplina joven que trata de unificar esfuerzos y hacer de puente entre ciencia básica y clínica aplicada, para trasladar los conocimientos adquiridos en el laboratorio a la clínica: la Oncología Traslacional (Figura 1). Como disciplina cuenta con menos de diez años de desarrollo, pero ya ha aportado avances fundamentales en la lucha contra el cáncer. Por ejemplo, con ella los avances en el desarrollo de nuevos fármacos antitumorales son mucho más rápidos que antes, identificando mucho mejor que grupos concretos de pacientes responderán o no a un determinado tratamiento. Los tratamientos a medida, personalizados para cada paciente, no serán posibles sin un desarrollo adecuado de la oncología traslacional.

Empleando marcadores moleculares concretos, se puede por ejemplo saber qué dosis concreta será efectiva en unos pacientes y no en otros, de manera que no se sobredosificará a unos o se infradosificará a otros. También podemos saber, para fármacos concretos que actúan sobre una determinada diana, si serán eficaces o no dependiendo de si ésta está presente o no, e incluso saber si a pesar de estar presente la diana, si el tratamiento será o no efectivo por estar dañada la ruta de señalización regulada por la misma, con lo cual se pueden evitar toxicidades para el paciente que no le aportarán beneficio alguno, e incluso empeorarán su salud. Un ejemplo de ello es el cáncer de mama, en el que un 20 % de los casos sobreexpresan un receptor llamado HER2, y contra el que se ha diseñado un anticuerpo monoclonal específico (Trastuzumab), que puede aportar beneficio neto a las pacientes con carcinomas que tienen sobreexpresión de HER2, pero no al 80 % restante.

La búsqueda de nuevos marcadores predictivos de respuesta se hace, pues, fundamental para mejorar en el tratamiento del cáncer, y es por ello que se deben incrementar las ayudas a la financiación de la oncología traslacional, de la cual se podrán beneficiar todos los pacientes oncológicos presentes, y futuros (una de cada tres personas sanas padecerá cáncer a lo largo de su vida).

MicroRNAs como elementos reguladores de la expresión génica y su implicación en patología molecular

Los microRNAs (miRNA) son pequeñas moléculas de RNA de diecinueve a veinticinco nucleótidos que se expresan en el núcleo celular de eucariotas, tanto en regiones intragénicas como intergénicas, y que pueden regular la expresión de genes a nivel post-transcripcional bloqueando la traducción y/o induciendo la degradación del RNA mensajero (mRNA) uniéndose a su región 3' no traducida (UTR) complementaria (Figura 2). Su descubrimiento se remonta hasta hace veinte años, de manos de la colaboración

de los científicos Ambros, Feinbaum y Lee, que describieron lin-4 en *Caenorhabditis elegans* (Figura 3). A pesar de la importancia de tal descubrimiento, la investigación con miRNAs no fue significativa hasta el presente siglo, cuando el número de publicaciones ha aumentado exponencialmente en los últimos años. Diversos estudios recientes indican que los microRNA están implicados en la patogénesis de todos los tipos de cáncer en humanos.

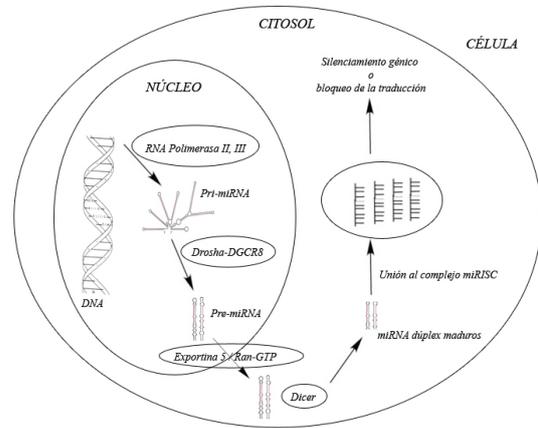


Figura 2. Biogénesis de los miRNAs. Existen evidencias de que los microRNAs son sintetizados por la RNA polimerasa II, aunque hay que considerar la posibilidad de que algunos sean transcritos por la RNA polimerasa III. Inicialmente se sintetizan como un fragmento de RNA policistrónico (Pri-miRNA), que es escindido por Droscha dando varios fragmentos de una sola hebra (Pre-miRNA). Posteriormente los pre-miRNA se exportan al citosol vía Exportina 5/Ran-GTP, donde son cortados por Dicer, dando dúplex maduros de miRNA. Posteriormente son integrados por separado en el complejo de silenciamiento miRISC, y dependiendo de la complementariedad con los mRNA mensajeros darán lugar a silenciamiento génico por degradación del mensajero, o bien bloqueo de la traducción en los ribosomas.

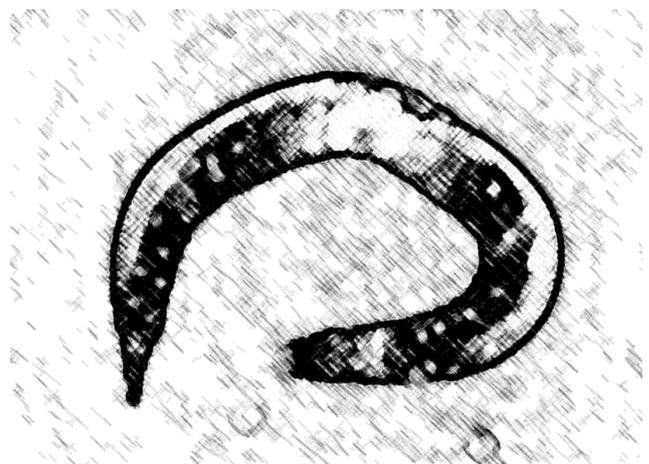


Figura 3. *Caenorhabditis elegans*. Este nemátodo rhabdítico es un importante modelo de estudio para la biología, en especial para la genética del desarrollo, y fue determinante para el descubrimiento de los miRNAs.

Se estima que en torno a un tercio de los genes en humanos podría estar regulado por miRNA, y a su

vez, cada miRNA podría regular hasta doscientos genes. Entre las dianas de los miRNAs están mensajeros que codifican para diversas proteínas implicadas en cáncer: factores de transcripción, proteínas reguladoras del ciclo celular, glicoproteínas implicadas en angiogénesis, receptores de membrana, proteínas oncogénicas, proteínas supresoras de tumores, proteínas señalizadoras, etc.

Para añadir aún más complejidad al sistema, un miRNA puede regular a la vez mRNAs de proteínas que promueven un determinado proceso y a su vez a los de proteínas que bloquean el mismo, de manera que pueden actuar de forma dual, tal y como ocurre con el clúster miR 17-92 (un cúmulo de varios miRNAs que se expresan inicialmente como un fragmento policistrónico), que posee funciones proangiogénicas y a su vez antiangiogénicas. Y no solo eso, sino que además pueden auto-regularse negativamente, bloqueando a las proteínas implicadas en su propio procesamiento (por ejemplo regulando la expresión de Dicer, una ribonucleasa de la familia RNasa III que participa en la maduración de los miRNAs). Ante tanta complejidad añadida a los mecanismos de regulación clásicos que se conocen, se puede deducir que las implicaciones de los miRNAs van más allá de exclusivamente la patogénesis del cáncer: están implicados en múltiples procesos biológicos, tanto del desarrollo embrionario como de la regulación posterior de diversos procesos fisiológicos del neonato y del adulto, entre los que cabe citar el metabolismo graso, la secreción de insulina, la hematopoyesis, el desarrollo del músculo, proliferación y muerte celular, desarrollo del cerebro y la diferenciación y mantenimiento de las células madre. Por tanto, su sobre-expresión, deficiencia, mutación e incluso pérdida puede estar detrás de un gran número de patologías, y se postulan pues como un interesante campo de estudio que conocer y entender para posteriormente utilizar como posible diana terapéutica.

MicroRNA y angiogénesis

La angiogénesis es un proceso fisiológico por el cual se forman nuevos vasos sanguíneos a partir de otros preexistentes en los tejidos animales. Se trata de un fenómeno normal durante la embriogénesis, el crecimiento, el desarrollo glandular y la reparación de heridas. Sin embargo, la angiogénesis también es considerada clave para el crecimiento tumoral y la generación de metástasis a distancia, siendo ésta última la principal causa de muerte en los pacientes. Las células tumorales tienen generalmente altas tasas de proliferación, siendo altamente dependientes del aporte de nutrientes para su crecimiento, y por ello la neovascularización es un paso crítico para la supervivencia del mismo (Figura 4). Sin el aporte adecuado de nutrientes, las células cancerígenas son incapaces de crecer y mueren rápidamente. La mayoría de los cánceres de mama producen VEGF, una glicoproteína de secreción que actúa como factor de crecimiento, estimulando vasculogénesis y an-

giogénesis. Sin embargo, otros cánceres de mama, y especialmente los recurrentes expresan hasta cinco factores proangiogénicos adicionales. Los tratamientos de quimioterapia convencional, incluyen en los últimos años antiangiogénicos como adyuvantes. La aparición de resistencia al tratamiento parece estar relacionada en muchos casos con la activación de vías redundantes de estimulación angiogénica, como VEGF/VEGFR y PDGF/PDGFR, CXCL12 o la vía del F3 (Factor Tisular).

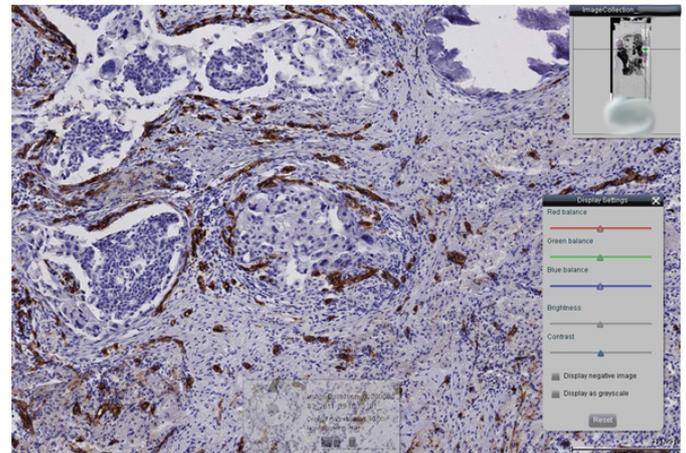


Figura 4. Angiogénesis y cáncer. Inmunohistoquímica para CD34 mostrando la neovascularización en una biopsia de cáncer de mama. Las células tumorales precisan de un gran aporte de nutrientes para sustentar su alta tasa metabólica, siendo clave para su supervivencia la formación de nuevos vasos sanguíneos en las inmediaciones de las mismas.

Algunos trabajos recientes apoyan la participación de miRNAs en la regulación del balance de factores pro/anti angiogénicos, generando fenotipos angiogénicos neoplásicos. Aunque el conocimiento de la implicación de los miRNAs en angiogénesis es todavía limitado, el clúster miR 17-92 parece desempeñar el papel más relevante. La transcripción de este clúster está directamente activado por el proto-oncogén C-myc, o por combinación de C-myc y Ras, lo cual explica su fuerte sobreexpresión en múltiples neoplasias. Sus efectos son complejos, y distintos miembros del clúster pueden ejercer tanto funciones proangiogénicas, como antiangiogénicas. Otros miRNAs se han relacionado con la modulación de vías centrales esenciales para la progresión neoplásica, que secundariamente pueden afectar a la expresión de VEGF (entre otros moduladores angiogénicos).

Función de los MicroRNAs en la angiogénesis del cáncer de mama y en la respuesta angiogénica a la quimioterapia: ejemplo de una línea de investigación en MicroRNAs de nuestro tiempo

En nuestro grupo de investigación contamos con un equipo multidisciplinar que incluye médicos, biólogos, bioquímicos, farmacéuticos, químicos y personal técnico. Existe además experiencia previa en el estudio de la función de los microRNA en la hemostasia

y en la regulación del factor tisular por microRNAs del clúster miR-17-92. Una de las líneas que estamos desarrollando actualmente está centrada en el papel que desempeña el clúster miR 17-92 en la angiogénesis del cáncer de mama y en la respuesta angiogénica a la quimioterapia con taxanos. Estos compuestos, producen cambios en el fenotipo angiogénico del cáncer de mama que pueden ser relevantes para el pronóstico de la neoplasia y para el diseño racional de esquemas de tratamiento adecuados. Se conoce a día de hoy muy poco sobre regulación por miRNAs de la angiogénesis del cáncer de mama, y menos aún del papel que juegan en la respuesta angiogénica a la quimioterapia. Los cambios en la expresión de microRNAs tras el tratamiento quimioterápico pueden estar relacionados con la respuesta tumoral al tratamiento, y a su vez pueden ser factores pronósticos de la neoplasia. Para evaluar su relevancia, nuestra hipótesis de partida es que los miRNAs del clúster 17-92 pueden tener una función clave en la promoción de la angiogénesis del cáncer de mama, mediante el silenciamiento de Trombospondina-1 y CTGF, y el aumento de VEGF. Sin embargo, hay también datos que sugieren un efecto antiangiogénico mediante el silenciamiento del F3 y de la vía de HIF1 alfa. El estudio está siendo realizado tanto en una serie clínica de muestras pre y post quimioterapia neoadyuvante (pre-operatorio) que incluye taxanos, como en diversas líneas celulares de cáncer de mama que servirán como modelos de los fenotipos tumorales hormonossensible, HER2 y triple negativo. En el grupo de Hematología y Oncología clínico-experimental disponemos de las técnicas de biología molecular, biología celular, de inmunohistoquímica y de análisis de imagen que nos permitirán estudiar cómo cambian los miRNAs con el tratamiento y que posibles consecuencias pueden producir dichos cambios sobre la capacidad angiogénica y sobre el pronóstico de la enfermedad en las pacientes con cáncer de mama.

Los hallazgos de este estudio podrían ayudarnos a entender mejor los mecanismos moleculares del

cáncer de mama (basados en microRNAs y angiogénesis) que permiten su adaptación y supervivencia al tratamiento quimioterápico con taxanos, su influencia sobre la probabilidad de recaída a largo plazo y sobre la supervivencia global de las pacientes.

Bibliografía

- El papel de los microARNs en el Cáncer, Desarrollo y potencialidad terapéutica. Díaz Prado, Antón Aparicio
- Lee R, Feinbaum R, Ambros V. Cell. 2004 Jan 23;116(2 Suppl):S89-92, 1 p following S96
- Rosalind C. Lee and Victor Ambros. Science 26 October 2001: Vol. 294 no. 5543 pp. 862-864
- Negrini et al., Current Opinion in Cell Biology 2009, 21:470-479
- Wu et al., Int. J. Cancer: 120, 953–960 (2006)
- Bonauer et al., Cell Cycle 8:23, 3866-3873; December 1, 2009
- Carthew et al., Cell 136, 642-655, February 20, 2009
- Folkman, APMIS 112: 496–507, 2004
- Volinia et al., Genome Res. 2010 20: 589-599
- Loscalzo et al., Clin Invest. 2010;120(11):3815-3817
- Ma et al., Nature Cell Biology 12, 247 - 256 (2010)
- Teruel R., et al., PLoS One. 2011 Mar 9;6(3):e17648
- Teruel R., et al., J Thromb Haemost. 2011 Oct;9(10):1985-92