

MEDICINA

EL EPITRANSCRIPTOMA DEL CÁNCER

Más allá de los cambios en el genoma y el epigenoma, las modificaciones que se producen en los transcritos del ARN pueden favorecer la aparición de esta enfermedad

Manel Esteller



A COMPLEJIDAD DE LAS FUNCIONES DE LOS SERES VIVOS, EJEMPLIFICADA EN LAS especializaciones de cada uno de sus órganos, tejidos o células, se basa en sofisticados sistemas de información. El primer nivel de esa información se almacena en el genoma. Así, los rasgos que distinguen una especie de otra se deben a diferencias en él.

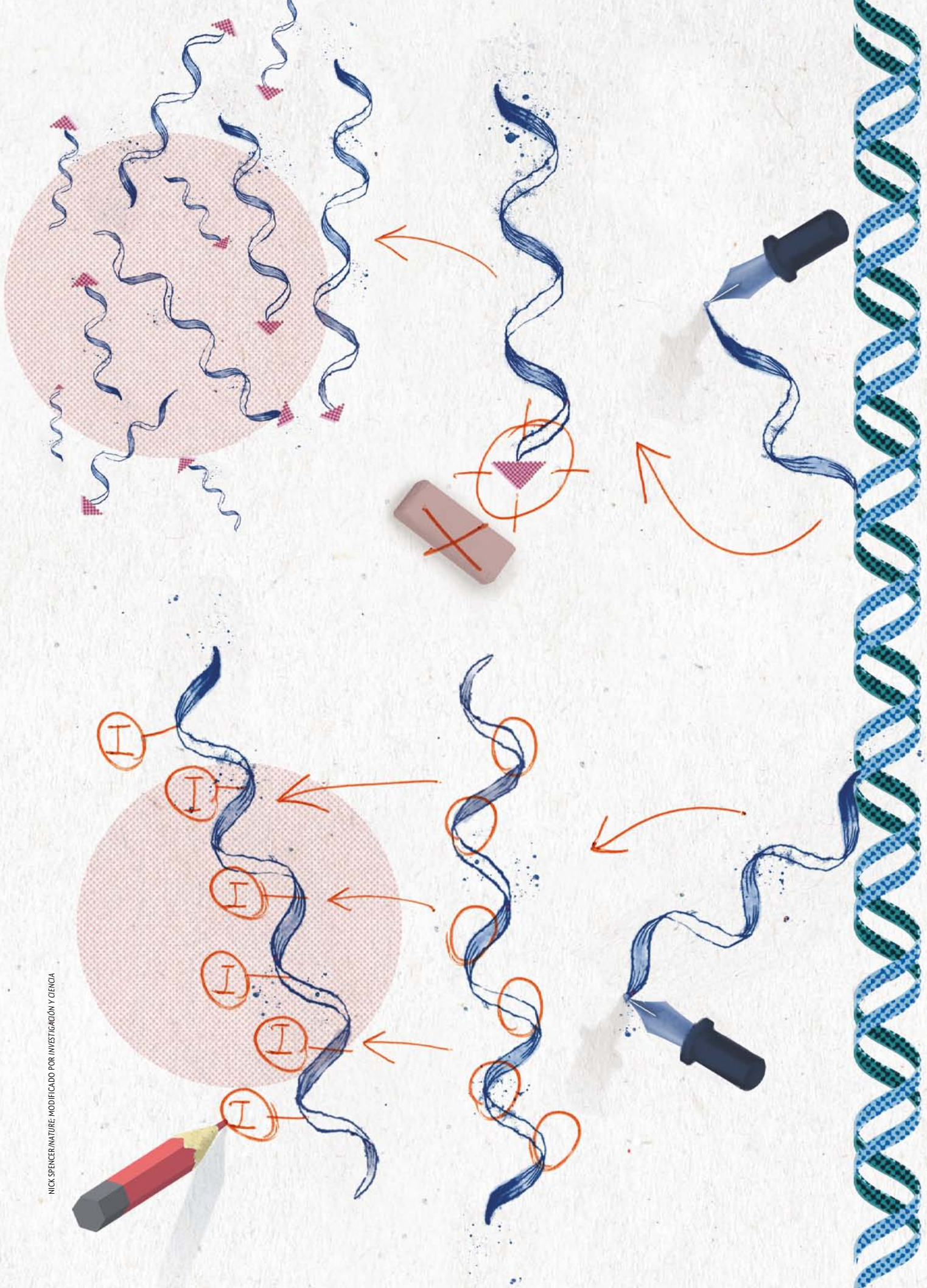
Sin embargo, algunas observaciones parecen contradecir esa idea fundamental. Una de ellas es que, a pesar de los importantes rasgos que nos distinguen, nuestros parientes primates no homínidos y nosotros compartimos casi la misma secuencia de ADN. El problema se engrandece cuando nos damos cuenta de que todas las células de un mismo individuo (excepto algunas del sistema inmunitario) tienen el mismo ADN. ¿Cómo es posible entonces que una célula de la retina exprese (o produzca) rodopsina para captar la luz y una de la sangre exprese hemoglobina para transportar oxígeno?

La respuesta la hallamos en el modo en que se regula ese ADN, es decir, la manera en que la información genética se transforma en proteínas. Existen modificaciones químicas que, al actuar sobre el ADN y sus proteínas reguladoras, controlan la actividad de los genes sin mutar la secuencia genética. Estas modificaciones, también llamadas marcas o señales, pueden heredarse de una célula a otra (a través de la mitosis) y de un

individuo a otro (a través de la meiosis). La ciencia que estudia estos cambios se denomina epigenética.

La señal química epigenética más estudiada es la metilación del ADN, en la que un grupo metilo se añade a la base nitrogenada citosina, con lo que se convierte en metilcitosina. Algunas enfermedades humanas se deben a mutaciones en el genoma. Pero otras están causadas por alteraciones en el epigenoma (el conjunto del genoma más las marcas epigenéticas). Por ejemplo, en el cáncer se ha observado que ciertos genes antitumorales, cuya misión consiste en frenar la división celular incontrolada, dejan de funcionar porque sufren una hipermetilación de sus regiones reguladoras. Este exceso de grupos metilo impide la expresión del ARN antitumoral, lo que provoca el desarrollo del cáncer.

Pero, desde hace poco, se está descubriendo la importancia de un nuevo mecanismo de regulación que supone una vuelta de tuerca más en el modo en que se interpreta la información genética. Se trata del epitranscriptoma, el conjunto de modifi-



caciones químicas que sufre no el ADN, sino el ARN. Debido a las múltiples posibilidades que tiene de cambiar la expresión de los genes, el epitranscriptoma representa una caja de Pandora casi inexplorada.

Nuestro grupo del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge y otros estamos descubriendo que algunos tipos de cáncer se asocian a defectos en este nivel de información, las modificaciones del ARN, sea este mensajero (ARNm, que da lugar a las proteínas), sea este no codificante (el que no produce proteínas, sino que regula su síntesis, por ejemplo, al intervenir en la transcripción del ADN en ARNm).

MÚLTIPLES MARCAS EN EL ARN

La molécula de ARN era considerada con frecuencia un mero intermediario entre el gen y la proteína. Esta visión cambió cuando, además de los clásicos ARN mensajeros, se empezaron a caracterizar ARN no codificantes. Además de los ARN de transferencia y ribosómico, que también participan directamente en la síntesis proteica, existe una gran variedad de ARN que ejercen otras funciones, la mayoría relacionadas con la expresión de los genes. Los más estudiados son los microARN, que se unen al ADN para controlar su transcripción.

Recientemente se ha comenzado a reconocer que si la información del genoma está regulada por el epigenoma, también el transcriptoma (el conjunto de ARN de una célula) cuenta con su propio sistema de modulación: el epitranscriptoma, o las modificaciones químicas de los distintos tipos de ARN.

Mientras que las marcas que se añaden al ADN son pocas, entre ellas la metilación y una variante de esta, la hidroximetilación, se han descrito más de 100 modificaciones químicas para el ARN. Tan solo ahora se están empezando a caracterizar y a determinar cuántas de ellas están presentes en las células humanas.

Además de la metilación y la hidroximetilación de la citosina del ARN, se han identificado otras modificaciones: la metilación en dos lugares distintos de la base nitrogenada adenina, así como de los nucleótidos situados a ambos extremos de la molécula de ARN; la conversión de la uridina en otra especie exótica llamada pseudouridina; la edición del ARN, en la que se originan guaninas a partir de adeninas; la circularización de la molécula de ARN; o modificaciones aún más insólitas, como la O-metilación (adición de un grupo metilo a la ribosa del ARN), la carboxilcitosina (citosina con un grupo carboxilo), la formilcitosina (citosina con un grupo formilo) o la quenosina (una variante de la guanosina).

UN SINFÍN DE COMETIDOS

Las funciones de las modificaciones o marcas del ARN son múltiples, según se está averiguando en los últimos años. La metilcitosina, la metiladenina y la pseudouridina del ARN influyen en la eficacia de la traducción (también conocida como eficacia traslacional). Ello significa que se sintetiza más proteína no porque se produzca más ARN mensajero, sino porque el que se

Manel Esteller es director del Programa de Epigenética y Biología del Cáncer del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge, investigador ICREA y profesor de genética de la Universidad de Barcelona.



origina se «traduce» mejor en proteínas cuando se encuentra en los ribosomas (las fábricas celulares de las proteínas).

Las marcas también regulan la estructura secundaria del ARN. Aunque a menudo nos imaginamos el ARN (y también el ADN) como simples líneas rectas, este no es el caso. Ambas moléculas adquieren una conformación tridimensional que les permite ejercer su función. Esta configuración resulta especialmente importante en el ARN no codificante: el patrón de marcas que presente le hará adoptar una forma particular que le permitirá interactuar con una molécula concreta. Por lo tanto, su función podrá variar según la distribución de marcas que exhiba.

Otra función interesante de las marcas guarda relación con la estabilidad del ARN, teniendo en cuenta que se trata de una molécula frágil. Si bien es posible estudiar el ADN de seres de la antigüedad, del pobre ARN suele quedar muy poco rastro con el tiempo. Un perfil de marcas que proteja el ARN de agresiones comportará, por tanto, una mayor expresión de la proteína codificada por él.

Pero, además, el epitranscriptoma puede determinar si una molécula del ARN queda secuestrada en el núcleo celular, donde se origina, o puede escaparse de él para llevar a cabo su cometido en el citoplasma. Así, otra forma con la que las marcas del ARN determinan la actividad de un gen consiste en decidir su destino en la célula. Se están identificando muchas más funciones del epitranscriptoma, como la capacidad de cambiar el código genético clásico o controlar la producción de las numerosas isoformas de un ARN. Los descubrimientos futuros en esta área se intuyen apasionantes.

TÉCNICAS EN DESARROLLO

Una de las dificultades que plantea el campo de la epitranscriptómica es puramente metodológica. Aún no disponemos de todas las herramientas que quisiéramos para analizar con precisión y detalle todas las modificaciones químicas del ARN.

Igual que para estudiar las enfermedades infecciosas e identificar los microbios que las provocan se necesitaron buenos microscopios, lo mismo ha sucedido en el ámbito de la genética. Primero se analizaron los genes por separado y ahora secuenciamos genomas enteros. Idéntico proceso sufrió el epigenoma: primero se empezó examinando la metilación de un gen y ahora los analizamos todos.

En cuanto al ARN, existe una dificultad añadida: la labilidad de la molécula antes comentada. Pero, además, nos faltan buenos protocolos químicos y moleculares. Por ejemplo, la metilación

EN SÍNTESIS

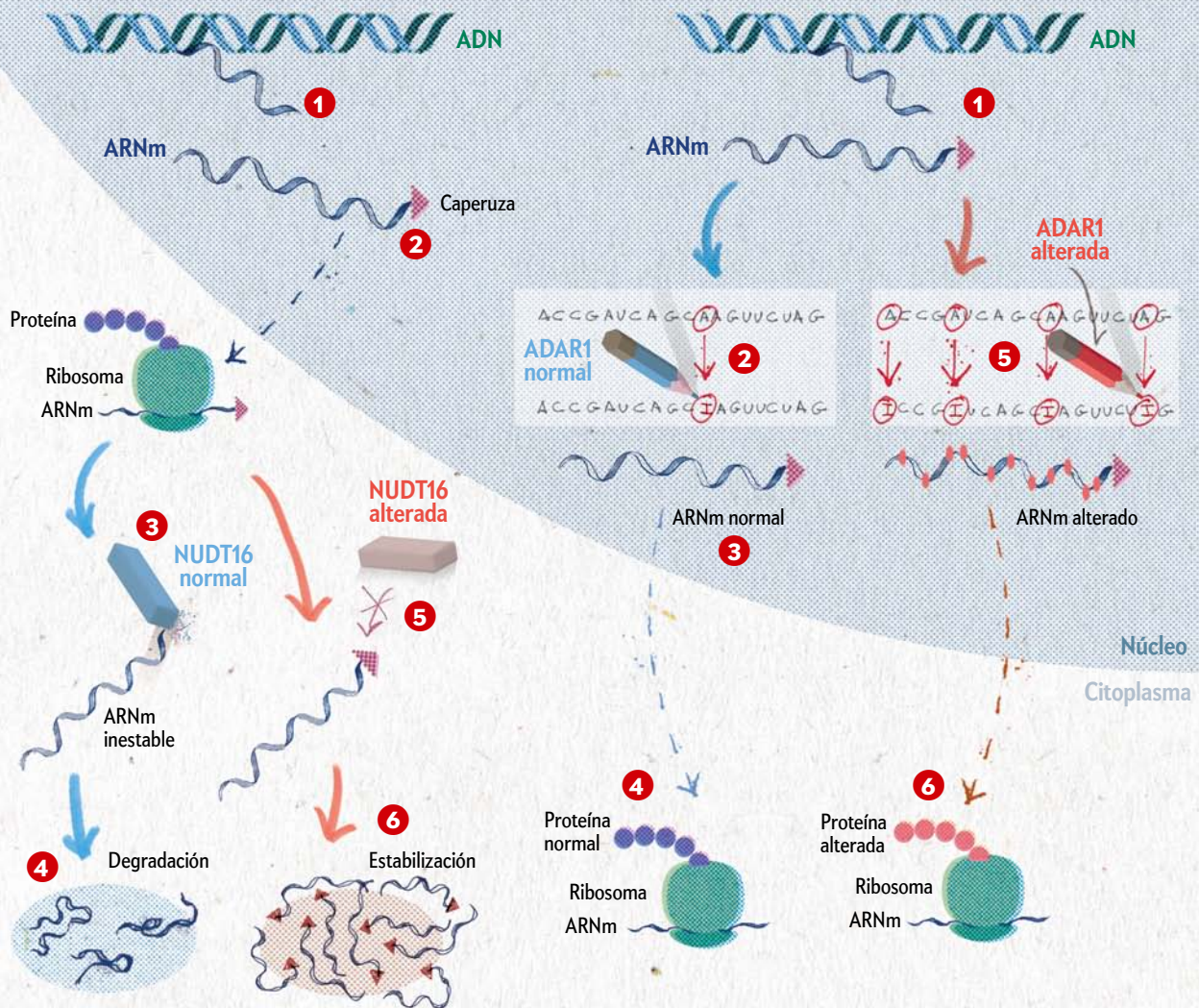
El cáncer puede estar provocado por mutaciones de ciertos genes, esto es, en la secuencia del ADN. También lo puede causar el mal funcionamiento de ciertas marcas químicas o modificaciones en el ADN, lo que se conoce como epigenoma.

Ahora se ha descubierto un nuevo mecanismo genético que puede desembocar en cáncer y que afecta al ARN. En concreto, se han observado anomalías en las modificaciones que presenta el ARN, que controlan también la expresión de los genes y constituyen el epitranscriptoma.

Algunas de esas alteraciones se han asociado a determinados tumores. Los fallos pueden producirse en las proteínas que añaden, eliminan o interpretan las marcas químicas.

Marcas alteradas en el cáncer

Las modificaciones o marcas químicas del ARN desempeñan funciones importantes en la actividad de esta molécula. En algunos tumores se ha observado que estas modificaciones se hallan alteradas. En particular, las proteínas que añaden, eliminan o interpretan estas marcas no funcionan bien, lo que lleva a la división celular anómala propia de la enfermedad. Abajo se ilustran dos ejemplos de ese mal funcionamiento en dos tipos de cáncer.

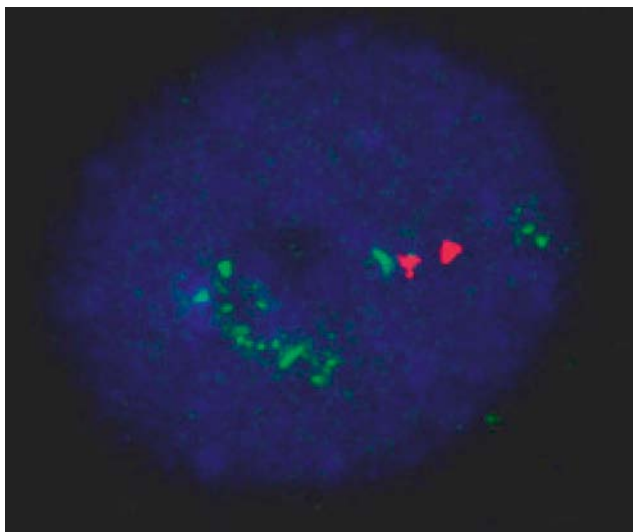


Leucemia

Después de la transcripción del ADN **1**, al ARN mensajero (ARNm) resultante se le añade una caperuza, una modificación esencial que estabiliza la molécula y participa en la salida de esta del núcleo **2**, lo que permite su traducción en proteína en el ribosoma. En condiciones normales, la enzima NUDT16 **3** elimina a continuación la caperuza del ARNm, con lo que este se desestabiliza, es degradado **4** y cesa la síntesis proteica. Pero en algunos tipos de leucemia se ha observado que NUDT16 no funciona bien y no retira la caperuza **5**, lo que provoca que el ARNm se estabilice y se acumule en la célula **6**. Como consecuencia, se producen más proteínas de lo normal, lo que da lugar a una división celular incontrolada y al cáncer.

Cáncer de pulmón

Después de la transcripción del ADN **1**, el ARN resultante experimenta un proceso de edición en su secuencia en el que la base adenina (A) es sustituida por otra denominada inosina (I) **2**. En condiciones normales, tal modificación es introducida por la enzima ADAR1 y sirve para controlar las mutaciones del ARN, con lo que se genera un ARN normal **3** que da lugar a una proteína normal **4**. En el cáncer de pulmón, se ha descubierto que la enzima ADAR1 se halla alterada e introduce excesivos cambios de A por I **5**. Como consecuencia, la traducción del ARNm da lugar a proteínas anómalas **6** que promueven la división celular incontrolada y el cáncer.



EN ESTA CÉLULA, correspondiente a una línea celular de cáncer de pulmón, se observa que el gen *ADAR1* (verde) presenta un número excesivo de copias. Debido a esta anomalía, la proteína *ADAR1* añade al ARN más modificaciones de las que debería, lo que en última instancia da lugar al desarrollo del cáncer. Para visualizar el gen de interés se ha empleado la técnica de la hibridación fluorescente in situ (FISH, por sus siglas en inglés). En rojo se aprecia un gen de control con sus dos copias normales.

de la citosina del ARN puede estudiarse a través de una reacción que primero se utilizó para identificar la citosina metilada del ADN. Sin embargo, carecemos de una técnica equivalente para conocer la metilación de la adenina en el ARN. Muchas veces se recurre al empleo de anticuerpos que actúan contra estas marcas del ARN o contra las proteínas que interactúan con ellas, con lo que se pierde especificidad. Y con frecuencia resulta imposible utilizar técnicas rápidas y sencillas de biología molecular para detectarlas, como la reacción en cadena de la polimerasa; en lugar de ello se necesitan técnicas altamente complejas, como la espectrometría de masas. Sin duda, deberá producirse una nueva revolución técnica que permita avanzar en esta área, y quizá los ultrasecuenciadores de cuarta generación ofrezcan una solución válida.

EPITRANSCRIPTOMA Y CÁNCER

El epitranscriptoma podría representar el eslabón perdido que desde el genoma, el epigenoma y el transcriptoma lleve hasta el proteoma. Todavía hay que seguir profundizando en su estudio. Pero sí hay una idea clara que se desprende de los estudios recientes: el epitranscriptoma se halla alterado en el cáncer.


En el síndrome llamado disqueratosis congénita, en el que las personas que lo sufren presentan un elevado riesgo de desarrollar un tumor, se ha identificado una mutación en un gen que codifica la pseudouridín sintasa. Esta enzima se encarga de «escribir» una modificación en la uridina del ARN, con lo que origina la pseudouridina. Sin esta modificación no se sintetizan correctamente ciertas proteínas supresoras de los tumores y, como consecuencia, aparece el cáncer.

Y en un cáncer de riñón denominado tumor de Wilms existen mutaciones en un gen responsable de una proteína que elimina las colas de poliuracilos de los ARN. Falla, pues, en este caso el mecanismo epitranscriptómico que se encarga de «borrar» las marcas del ARN.

Nuestro grupo ha proporcionado dos ejemplos más que indiquen una asociación entre alteraciones en el epitranscriptoma y la aparición del cáncer. En un estudio publicado en agosto en la revista *Oncogene*, observamos que en alrededor de un 15 por ciento de los tumores de pulmón se producen copias extra del gen *ADAR1*, responsable de editar el ARN. Los pacientes con esta anomalía muestran un transcriptoma «supereditado», con un exceso de guaninas donde debería haber adeninas.

El segundo ejemplo hace referencia a un subtipo de leucemia denominado leucemia aguda linfoblástica de tipo T. En un artículo publicado en la revista *Leukemia*, describimos que la enzima encargada de eliminar la marca química del extremo inicial del ARN presenta una actividad insuficiente a causa de un mecanismo epigenético (la hipermetilación del ADN). Como consecuencia de ello, los ARN de ciertos oncogenes no se degradan, se estabilizan y contribuyen al desarrollo de este tumor hematológico.

Nos hallamos aún en los albores de la aplicación de la epitranscriptómica a la medicina y la oncología, pero podemos vislumbrar algunos destellos. Ya existen pruebas diagnósticas basadas en el estudio de biopsias sólidas o líquidas (sangre) para detectar cambios del epitranscriptoma asociados al desarrollo tumoral en pacientes de alto riesgo. También se están desarrollando fármacos dirigidos contra las mutaciones activadoras de los genes encargados de añadir, quitar y leer las modificaciones químicas del ARN. Incluso no es descabellado pensar que fármacos ya existentes estén actuando en parte gracias a un mecanismo epitranscriptómico. Por poner un ejemplo, los medicamentos epigenéticos llamados inhibidores de la metilación del ADN, que están siendo usados para tratar ciertas formas de leucemia y linfoma, reactivan genes supresores tumorales. Y lo hacen a nivel del ADN, pero podrían estar también interfiriendo en la metilación del ARN. Por tanto, su efecto beneficioso podría deberse también a este componente epitranscriptómico.

Parece que hayamos avanzado mucho, pero no es así. Solo hemos sacado a la luz la cúspide de una inmensa pirámide enterrada en la arena bajo nuestros pies. Aunque la comprensión del epitranscriptoma haya empezado a dar sus primeros pasos, parece ser que su contribución a entender la biología de nuestras células, así como su disfunción en patologías humanas, va a ser como mínimo igual de importante que la del genoma, el epigenoma, el transcriptoma o el proteoma. Una tarea que exigirá la dedicación de muchas generaciones de jóvenes científicos. 

PARA SABER MÁS

Messenger RNA modifications: Form, distribution and function.

W. V. Gilbert, T. A. Bell y C. Schaening en *Science*, vol. 352, págs. 1408-1412, junio de 2016.

Gene amplification-associated overexpression of the RNA editing enzyme *ADAR1* enhances human lung tumorigenesis.

C. A. Anadón et al.

en *Oncogene*, vol. 35, págs. 4407-4413, agosto de 2016.

The epitranscriptome of noncoding RNAs in cancer.

Manel Esteller y Pier

Paolo Pandolfi. *Cancer Discovery*, vol. 7, n.º 4, págs 1-10, marzo de 2017.

Epigenetic loss of the RNA decapping enzyme *NUDT16* mediates C-MYC activation in T-cell acute lymphoblastic leukemia.

C. Anadón et al.

en *Leukemia*, vol. 31, págs. 1622-1625, julio de 2017.

EN NUESTRO ARCHIVO

El epitranscriptoma, un nuevo giro de la epigenética. Cassandra Willyard en *lyC*, septiembre de 2017.