

09 DE JUNIO DE 05

## MicroARNs íntimamente relacionados con el cáncer

En base a descubrimientos que podrían abrir un nuevo capítulo en la comprensión y el diagnóstico del cáncer, investigadores del Instituto Médico Howard Hughes y sus colegas han establecido que microARN minúsculos proporcionan una vía genética novedosa para la iniciación de algunas formas de cáncer. Los investigadores publicaron sus descubrimientos en artículos independientes del número del 9 de junio de 2005, de la revista *Nature*. Sus resultados muestran que patrones de actividad característicos de los microARNs (miARNs) en células cancerígenas se pueden utilizar para diagnosticar cánceres, informó el investigador del HHMI Todd R. Golub, quien se encuentra en el Instituto para el Cáncer Dana-Farber y el Instituto Broad del MIT y de Harvard. Golub y los coautores H. Robert Horvitz y Tyler Jacks, ambos investigadores del HHMI en el MIT, mostraron que se pueden utilizar los perfiles de expresión de miARN para clasificar cánceres humanos y distinguir las células normales de las cancerosas. El nuevo estudio muestra que los perfiles de expresión de microARN pueden incluso ayudar a distinguir células cancerosas que de otra forma no se podrían identificar en base a su aspecto exterior. En un segundo artículo publicado en *Nature*, Gregory Hannon, Scott Lowe y sus colegas mostraron que un conjunto específico de microARNs puede causar linfomas en ratones. Hannon y Lowe, quienes recientemente fueron nombrados investigadores del HHMI en el Laboratorio de Cold Spring Harbor, dicen que en base a los nuevos resultados, están de acuerdo con la propuesta de llamar a los microARNs que causan cáncer “microARNs oncogénicos” u “oncomiRs”, así como los genes que causan cáncer se llaman oncogenes. El autor senior Scott Hammond, de la Universidad de Carolina del Norte, en Chapel Hill, y Carlos Cordon-Cardo, en el Centro del Cáncer Memorial Sloan-Kettering, también hicieron sus aportes para la realización de los estudios.

Un tercer artículo en *Nature* de Joshua Mendell y colegas en la Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins indica que algunos microARNs cooperan con un gen que se conoce causa cánceres humanos. “Estos tres estudios cambian el panorama de la genética del cáncer al establecer los miARNs específicos que se expresan en los cánceres más comunes e investigar los efectos de los miARNs en el desarrollo del cáncer y en los genes cancerígenos”, escribió Paul Meltzer, del Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano, en un comentario en *News and Views* del mismo número de *Nature*. Los microARNs, que tienen una longitud de no

más de un par de docenas de nucleótidos, parecen regular una amplia gama de procesos fisiológicos y de desarrollo. Sin embargo, sus funciones reguladoras siguen siendo en gran parte misteriosas, ya que sólo se han establecido las funciones de unos pocos más de 200 microARNs conocidos. A diferencia de las grandes moléculas de ARN mensajero (ARNm) que codifican para proteínas celulares, los diminutos microARNs regulan la actividad génica al interferir con los ARNm.

Según Horvitz, la idea de sus estudios tiene su origen en la biología del desarrollo. “Desde que se descubrió que los microARNs controlan divisiones celulares específicas en el nemátodo *C. elegans*, he especulado que podría haber una relación entre los microARNs y el cáncer humano”, dijo. “Nuestro estudio establece una llamativa correlación entre los patrones de expresión de microARN y el cáncer y ofrece la posibilidad de utilizar los patrones de expresión de microARN para ayudar en el diagnóstico y el tratamiento del cáncer”.

---

## "Sospechábamos que los microARNs podrían estar involucrados en el cáncer porque tienen funciones importantes en el desarrollo embrionario."

- **Todd R. Golub**

---

Golub dijo que a pesar de que había habido pistas de que los miARNs individuales se activaban y desactivaban en cánceres, “realmente no había una visión global de perfiles de miARN en cáncer, hasta que se realizó este trabajo. El primer interrogante era si podríamos encontrar algo que fuera interesante. Sospechábamos que los microARNs podrían estar involucrados en el cáncer porque tienen funciones importantes en el desarrollo embrionario”.

Golub hizo notar que el pequeño tamaño de los microARNs desafiaba la utilización de técnicas de microarreglos convencionales para analizar la actividad génica. Los microarreglos consisten en grandes cantidades de ADN de genes se unen a un pequeño portaobjeto. Ese portaobjeto luego se trata con una mezcla de ARN mensajero marcado fluorescentemente y aislado de células cuya actividad se desea analizar. Las moléculas de ARN se unen a sus contrapartes complementarias de ADN en el portaobjeto. La cantidad de ARNm, según lo medido por la fluorescencia, refleja la actividad de un gen. Sin embargo, es imposible obtener un perfil de expresión génica en masa con los miARNs porque sus secuencias cortas no son tan características y, por lo tanto, “hibridizan de forma inespecífica” entre sí, dijo Golub. Por lo tanto, Golub y sus colegas inventaron una técnica rápida, barata y precisa que se basa en bolillas para analizar la actividad de los miARNs. Su técnica requiere de bolillas plásticas codificadas con colores a las que se les unen secuencias

de ADN que son complementarias para los miARNs individuales cuyos niveles se desean estudiar. Las bolillas se pueden hacer en 100 colores distintos, lo que permite el análisis de los niveles de muchos miARNs diferentes.

Utilizando una técnica desarrollada por Horvitz y sus colegas, amplificaron el miARN de las células dianas, lo aplicaron a las bolillas y lo tiñeron. Mediante una técnica de clasificación de células, determinaron la identidad de cada miARN por el color de la bolilla y la abundancia de cada uno por la intensidad de la mancha en cada bolilla. Usando las nuevas técnicas, los investigadores descubrieron que pudieron distinguir una gama distinta de células cancerígenas humanas sólo en base a sus patrones de expresión de miARN. También pudieron utilizar los patrones de actividad de miARN para distinguir subtipos de leucemia linfoblástica aguda, que se diferencian en su origen genético.

“Estos descubrimientos fueron tanto sorprendentes como interesantes, ya que con el análisis de microarreglos de ARN mensajero estándar, para cada interrogante distinto que se plantea, se utilizan ARNs totalmente diferentes que son informativos para ese interrogante en particular. Por lo tanto, sería simplemente imposible encontrar doscientos ARNs mensajeros que puedan ser indicadores universales de las características de cánceres”, dijo Golub. Los investigadores también probaron su técnica en cánceres que presentan desafíos de diagnóstico particulares, porque parecen muy similares bajo el microscopio. En esos estudios, encontraron que podían clasificar tales cánceres con una buena exactitud. También descubrieron que la técnica podía diferenciar tumores de células normales, con la mayoría de los miARNs suprimidos en tumores. Finalmente, trabajando con Jacks, los investigadores probaron qué tan eficaz era la técnica para distinguir tumores de células normales tomadas de ratones mutantes con cáncer de pulmón. “Nos preocupaba que nuestros resultados anteriores pudieran haber sido artefactos, porque algunos de los tumores provenían de una fuente y las células normales de otra”, dijo Golub. Sin embargo, dijo, los estudios animales confirmaron que la técnica podía distinguir las células cancerosas de las normales. Golub dijo que los estudios realizados en ratón demostraron que el mismo sistema de detección de miARN se podría utilizar tanto en ratones como en seres humanos, para la realización de estudios comparativos. Según Golub, un interrogante biológico clave es si los perfiles de miARN distintivos que han encontrado en cánceres representan una relación causal entre el cáncer y los miARNs o si simplemente existe una asociación entre los mismos. Sin embargo, en su artículo de *Nature*, Hannon, Lowe, Hammond y sus colegas, establecieron una función causal clara en un conjunto específico de miARNs en el cáncer sanguíneo linfoma de célula B. En su estudio compararon la expresión de genes para un conjunto de miARNs llamados mir-17-92 en células y tejidos humanos normales con los que tienen linfomas de célula B. Los estudios de otros investigadores habían mostrado que la región génica, o el locus, que contiene este conjunto está amplificada en varios tipos de linfoma. Utilizando una técnica de microarreglo especialmente diseñada, desarrollada recientemente por Hammond, los investigadores encontraron

que los tumores presentaban un aumento substancial en la actividad del conjunto de genes de miARN. Después, trabajando con el coautor Scott Powers que trabaja en Cold Spring Harbor, Hannon y sus colegas probaron la actividad génica del miARN mir-17-92 en muestras de tumores humanos de linfomas y de cánceres colorrectales. Encontraron que los genes miARN estaban sobreexpresados en los primeros pero no en los segundos. “Ese descubrimiento nos dio la confianza de que podríamos estar observando algo que podría ser clínicamente relevante”, dijo Hannon. Finalmente, los investigadores probaron los efectos de la sobreexpresión del conjunto de miARN en ratones que tenían el oncogén *c-myc* -utilizando un modelo en ratón usado frecuentemente por Lowe y sus colegas-. “Aunque los ratones *c-myc* desarrollan tumores, encontramos que la sobreexpresión del locus mir-17-92 en esos ratones hizo que los tumores surgieran mucho más rápidamente, que fueran mucho más agresivos y que mataran a los animales más rápidamente”, dijo Hannon. Específicamente, dijo, la adición de los genes miRNA parecía reducir la muerte celular natural, llamada apoptosis, que tiende a mantener controlados los tumores. A pesar de que la investigación del cáncer se ha centrado en genes que codifican para proteínas, dijo Hammond, “ahora también tenemos que, al menos, considerar los genes para miARNs no codificantes, cuando pensamos sobre los tipos de alteraciones genéticas que pueden contribuir a los tumores”. Tales consideraciones, dijo, influenciarán probablemente en los métodos de clasificación y de diagnóstico de cánceres, así como en su tratamiento. Siguen existiendo interrogantes importantes sobre los mecanismos por los cuales los miARNs afectan los cánceres y su prevalencia en el cáncer, dijo Hannon. “Ésta no es de ninguna manera una respuesta definitiva sobre la función de los miARNs en el cáncer”, dijo. “Pero es el primer vínculo realmente definitivo con el que podemos mostrar con experimentos biológicos que los microARNs pueden actuar como un oncogén”. Hannon dijo que -dada la función aparentemente central que tienen los miARNs en el desarrollo de cánceres- el apoya la propuesta de Frank Slack, de Yale, de que tales miARNs sean llamados “ARNs microoncogénicos” o “oncomiRs” y de que mir-17-92 se llame oncomiR-1.