



Metilación de los promotores génicos de CADM1, MAL y miR-124 como biomarcadores de riesgo en cáncer de cérvix

Autores

Núria Carreras Diéguez

Aureli Torné

Jaume Ordi

Esther Barnadas

Marta del Pino

Resumen

Justificación

El carcinoma de cuello uterino (CCU) se asocia a la infección por determinados genotipos de virus del papiloma humano (VPH). La infección se suele resolver espontáneamente, pero, un pequeño porcentaje de infecciones persiste dando lugar a lesiones con riesgo de transformación a CCU. Las lesiones precursoras denominadas lesión escamosa intraepitelial (SIL, del inglés squamous intraepithelial lesion). La SIL se gradúa según su riesgo de evolución a CCU en bajo grado (LSIL/ICIN1) y alto grado (HSIL/CIN2-3).

El 60-80% de las lesiones LSIL se resuelven espontáneamente y sólo 5-10% de ellas progresan a HSIL/CIN3; El riesgo de progresión a CCU de la HSIL/CIN3 es muy elevado, hasta el 50% de estas lesiones progresarán a CCU a largo plazo si no son tratadas. Las lesiones de HSIL/CIN2 representan una categoría intermedia y está en debate cuál sería el abordaje adecuado de estas. Actualmente no podemos predecir en el momento del diagnóstico la evolución de una determinada lesión de SIL, no existe ningún método en la práctica clínica que ayude a identificar a las pacientes que progresarán hacia HSIL/CIN3 a partir de HSIL/CIN2, o LSIL/CIN1. Esto implica que se deba realizar el seguimiento y tratamiento de un gran número de mujeres con un riesgo bajo de progresión, con importantes consecuencias de sobrecarga asistencial y de sobretratamiento. La identificación de biomarcadores que permitan evaluar el riesgo de progresión de las lesiones cervicales constituye una de las prioridades en la investigación de la patología cervical.

La metilación de promotores es un mecanismo epigenético, no mutagénico y reversible, fundamental en el control de la expresión génica, siendo una de las alteraciones más precoces en el desarrollo del fenotipo maligno de algunas neoplasias. En el CCU se han descrito alteraciones de determinados patrones de metilación en genes implicados en el control del ciclo celular y se ha sugerido que éstos podrían tener un papel en la transformación maligna de la célula cervical. Entre los genes estudiados, la metilación de los promotores de CADM1, MAL y miR-124 ha demostrado ser útil en la identificación de lesiones de HSIL/CIN2-3) y CCU, sin embargo, la metilación génica como marcador pronóstico de progresión de lesiones intraepiteliales no ha sido estudiada.



Objetivos

Estudiar si la alteración de los perfiles de metilación de los promotores génicos de CADM1, MAL y miR-124 puede ser útiles como biomarcadores de riesgo de progresión de las lesiones de LSIL/CIN1 y HSIL/CIN2.

Objetivos concretos:

Describir los patrones de metilación de los genes CADM1, MAL y miR-124 de las lesiones LSIL/CIN1 y HSIL/CIN2 tributarias de seguimiento.

Determinar si existen patrones de metilación de los genes CADM1, MAL y miR-124 en las lesiones LSIL/CIN1 y HSIL/CIN2 asociados a progresión o regresión.

Analizar la sensibilidad y la especificidad de los patrones de metilación en las lesiones LSIL/CIN1 y HSIL/CIN2 para la predecir la progresión.

Métodos

Estudio observacional, longitudinal, incluirán 100 pacientes con biopsia de LSIL/CIN1 y 30 pacientes con biopsia de HSIL/CIN2 tributarias de seguimiento diagnosticadas entre 2015-2016.

Criterios de exclusión: antecedente de CCU, tratamiento por HSIL/CIN2-3 en los últimos 3 años, embarazo en curso, inmunosupresión.

Criterios exclusión de seguimiento de las HSIL/CIN2: edad >35 años, zona de transformación no valorable, lesión no visible totalmente, lesión colposcópica mayor del 50% de la superficie cervical, imposibilidad de seguimiento.

En la primera visita de casos referidos a la Unidad de Colposcopia por una prueba VPH-AR positiva y/o una citología anormal, se toma una muestra cervical, para citología y prueba de VPH, y se realiza colposcopia y toma de al menos una biopsia.

Seguimiento: las pacientes con diagnostico histológico de LSIL/CIN1 o HSIL/CIN2 candidatas de seguimiento son controladas cada 6 meses durante al menos 2 años (cinco visitas) con citología, prueba VPH, colposcopia y biopsia en caso de sospecha de progresión (citología de HSIL, empeoramiento del patrón colposcópico o aumento área lesional valorada colposcópicamente).

Tratamiento y fin del estudio. El seguimiento se interrumpirá si se confirma progresión histológica de la lesión. En tal caso se procederá a su escisión y se incluirá la pieza como muestra de estudio. De igual manera se procederá con todas las pacientes en las que la lesión de HSIL/CIN2 persista en la visita realizada a los 24 meses de seguimiento.



Metodología detallada

Las citologías se realizarán en medio líquido (ThinPrep®). En la muestra de citología, se realizará la prueba de VPH mediante Cobas (Roche). Las biopsias se procesarán mediante fijación en formol e inclusión en parafina. Sobre el material sobrante de la citología, se analizarán los patrones de metilación de los genes CADM1, MAL y miR-124, previa extracción de ADN (High Pure PCR Template Preparation Kit, Roche) y tratamiento del ADN con bisulfito (EZ DNA Methylation Kit, Zymo Research). El estudio de metilación de los promotores se realizará por medio de una reacción de qMSP (ABI 7500 real-time PCR system, Applied Biosystems).

Resultados preliminares/esperados

El estudio los patrones de metilación de CADM1, MAL y miR-124 en las lesiones LSIL/CIN1 y HSIL/CIN2, nos permitiría identificar a las pacientes con alto riesgo de progresión permitiendo ofrecer un tratamiento inmediato, y al mismo tiempo un seguimiento menos intensivo en las mujeres con bajo riesgo, reduciendo el número de visitas y procedimientos innecesarios.