

EXPRESIÓN DE HAT1 Y EZH2 EN CÁNCER DE PRÓSTATA

Granado Cano, Paula; Palacios Gómez, Esther; Esteban Lasso, Alfonso; Bargiela Cuevas, Sandra; Gabaldón Ojeda, María; Martínez Toledo, Cristina; García-Tuñón, Ignacio; Ortega Núñez, Miguel Ángel

Universidad de Alcalá; Dpto. Biomedicina y Biotecnol.; Dpto. Medicina y Espec. Médicas; Hosp. Ramón y Cajal (Madrid); INARI Biotech, S.L.

INTRODUCCIÓN

Además de alteraciones genéticas, diversos factores epigenéticos están implicados en la progresión del cáncer. Trabajos recientes destacan el papel en la progresión de la enfermedad y la resistencia a las terapias, de dos moduladores epigenéticos: la histona acetil transferasa 1 (HAT1), que acetila histonas H4 de nueva síntesis, y la histona-lisina metiltransferasa (EZH2) cuya principal función es la metilación de la histona H3. El cáncer de próstata, responde inicialmente a terapias de bloqueo androgénico. Sin embargo, hasta un 30% de los pacientes sufren una progresión clínica de la enfermedad, mucho más agresiva, con peor pronóstico y resistente a la hormonoterapia. Dada la reconocida relación HAT1 y EZH2 con el principal factor implicado en esta progresión, el receptor para andrógenos (AR), especialmente su variante 7^(1,2) planteamos la posibilidad de **La expresión conjunta de HAT1, EZH2 y ARV7 en tumores localizados o localmente avanzados de próstata podría estar relacionada con un curso más adverso de la enfermedad.**

METODOLOGÍA

Se analizaron un total de 90 muestras de pacientes con cáncer prostático, incluidas en parafina, del hospital Universitario de Getafe (Madrid), de las que 10 fueron hiperplasias protáticas benignas (HBP) y 80 neoplasias malignas. Se realizó un análisis inmunohistoquímico con anticuerpos anti-HAT1, anti-AR, anti-ARV7 y anti-EZH2. Las imágenes obtenidas se analizaron mediante el software libre ImageJ. El análisis estadístico se realizó mediante Excell y GraphPad Prism 3.0, usando el test Mann Whitney ($P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$) y el test de Spearman. También se realizó un análisis en líneas celulares que expresan receptor para andrógenos (LNCaP, HS y 22RV1, HR, que además expresa ARV7) y negativas para AR (PC3 y DU145). También se analizaron mediante Western Blot células LNCaP de mantenidas largo tiempo en cultivo, lo que supone una disminución de la sensibilidad al bloqueo androgénico.

RESULTADOS

FIG.1.- Inmunohistoquímica. En HBP se observó una señal moderada para AR y escasa para HAT1; en tumores HS se observó más señal de AR y HAT1, sin aumento de la señal para EZH2. Los tumores HR mostraron una señal intensa para HAT1, EZH2, AR y ARV7. HAT1 y EZH2 presentan el mayor nivel de correlación. Ambos correlacionan con ARV7. Solo EZH2 y ARV7 se correlacionan con AR.

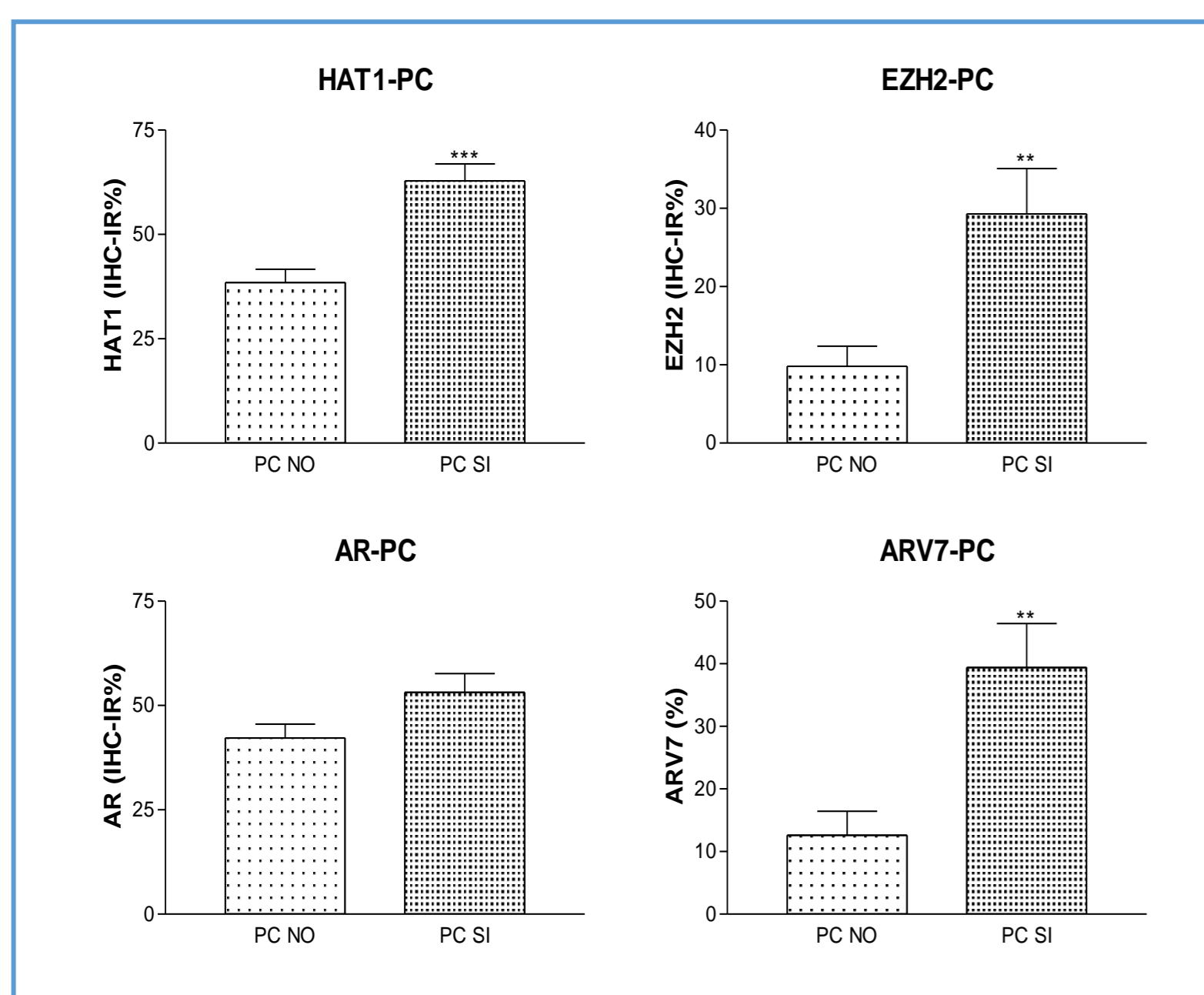


Fig.2.- Relación significativa entre HAT1, EZH2 y ARV7 con la progresión clínica de la enfermedad.

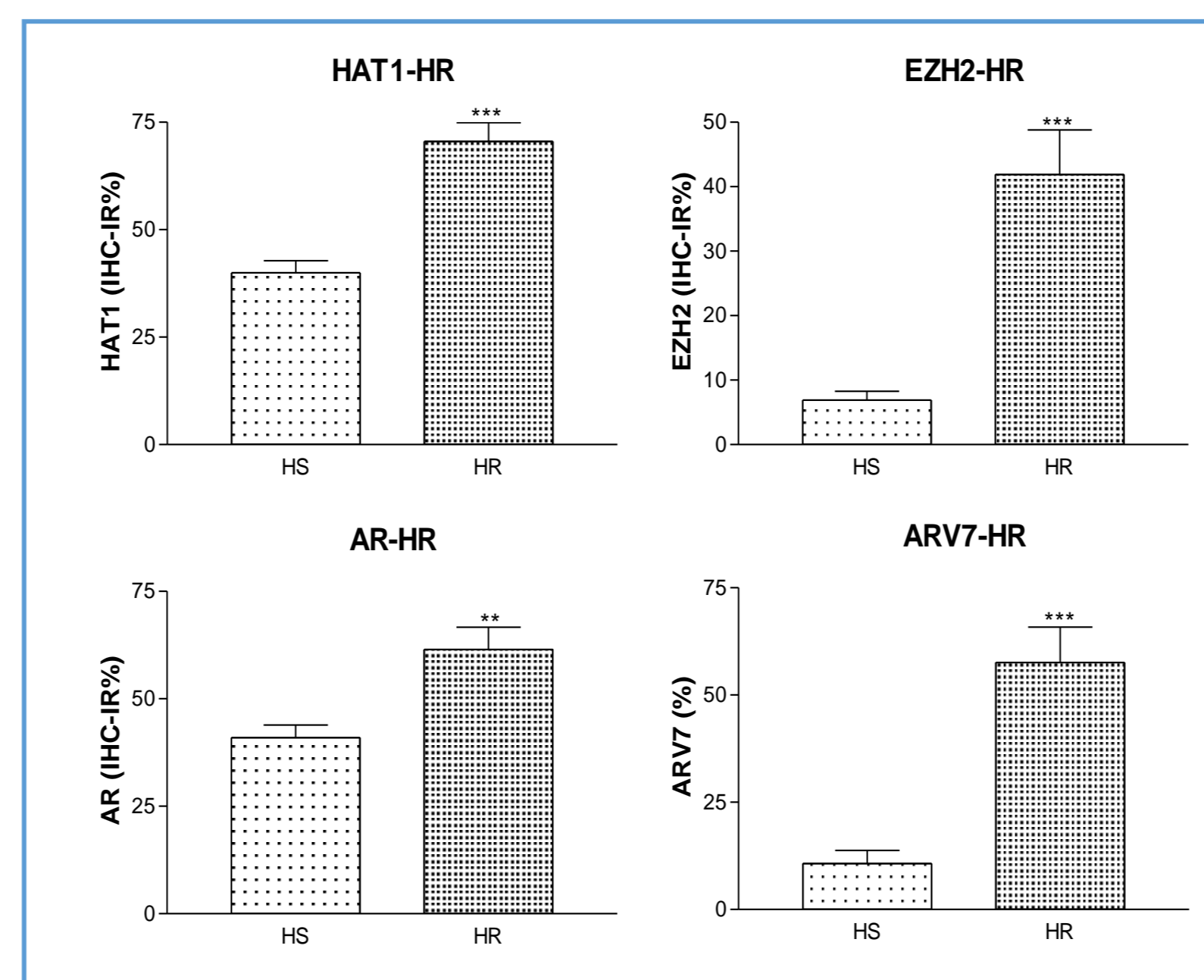


Fig.3.- Niveles de los cuatro marcadores significativamente más elevados en muestras de pacientes con progresión a hormono-resistencia (HR).

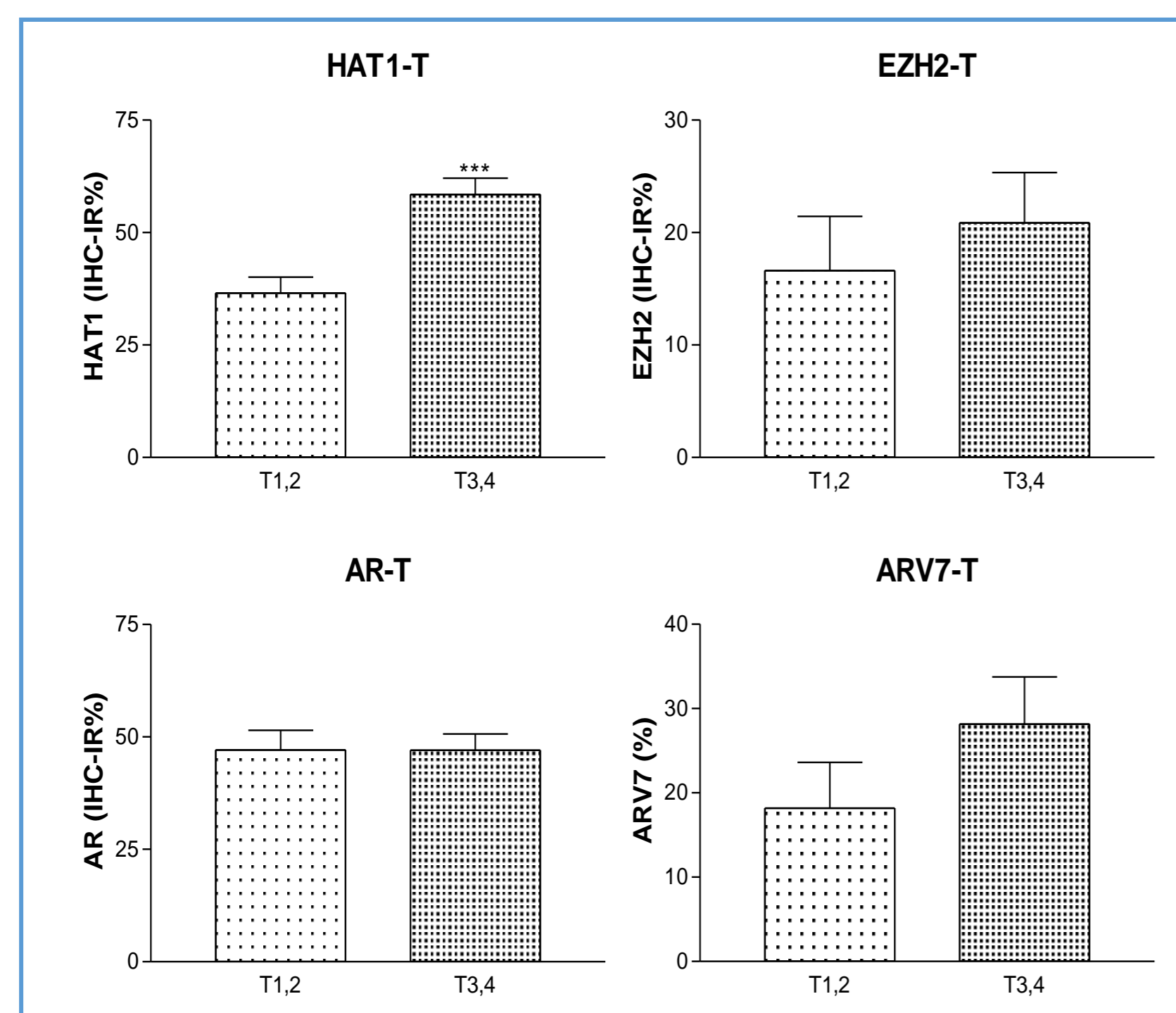
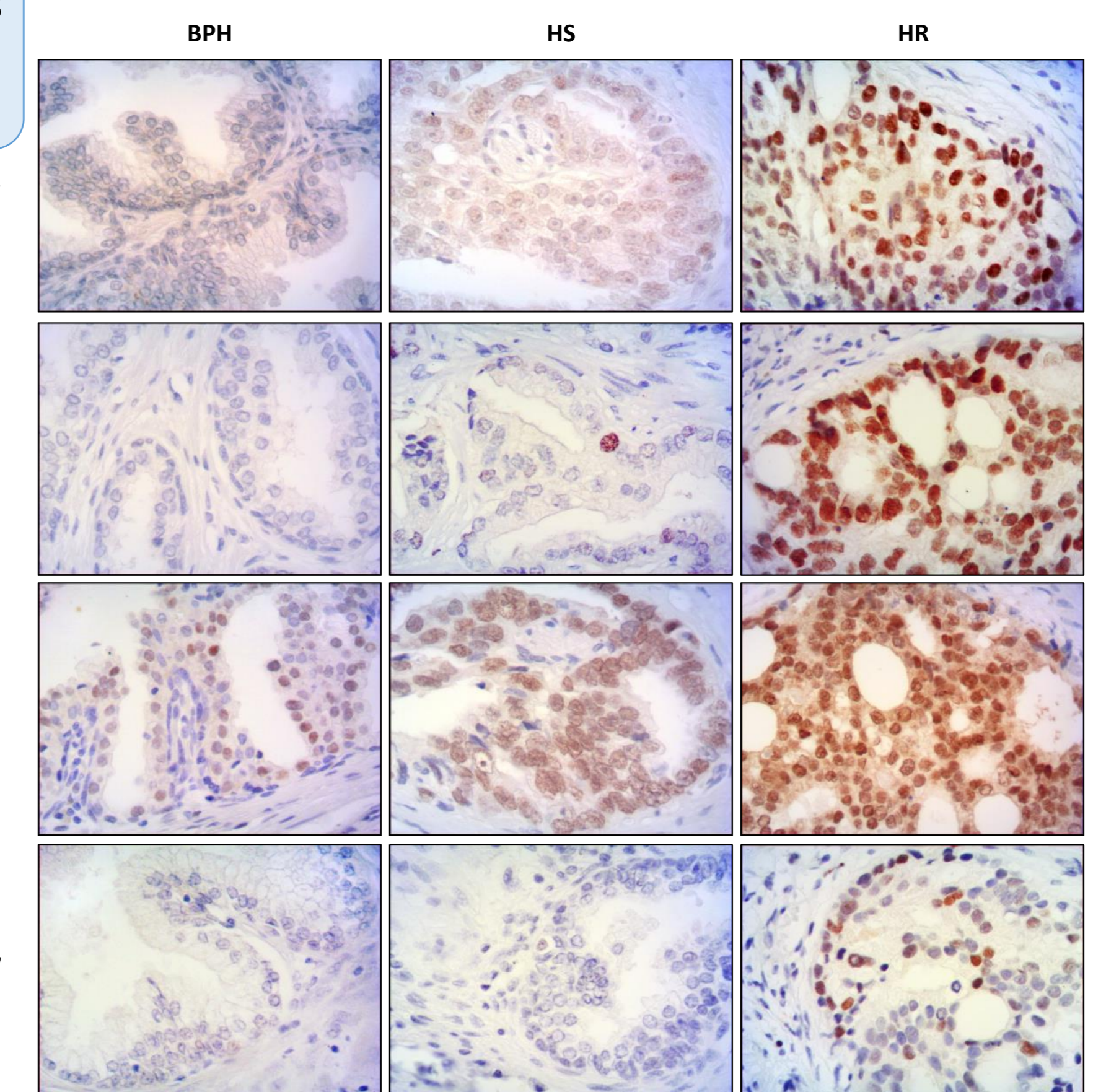


Fig.4.- Niveles de los marcadores según el grado de invasión al diagnóstico (T). HAT1 se relaciona con mayor invasividad al diagnóstico (T3,4).

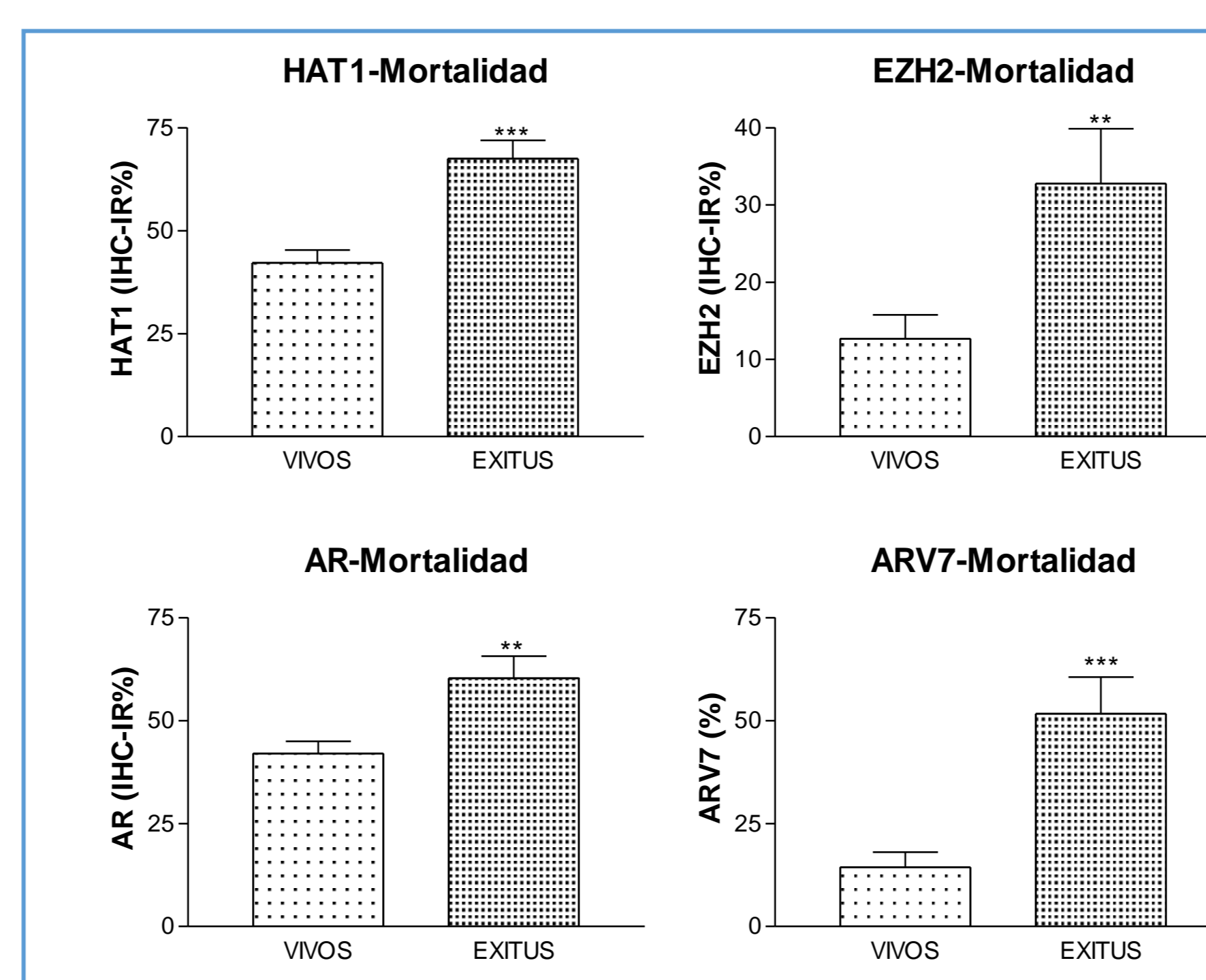


Fig.5.- Relación significativa entre los niveles de los marcadores estudiados y el fallecimiento de los pacientes.

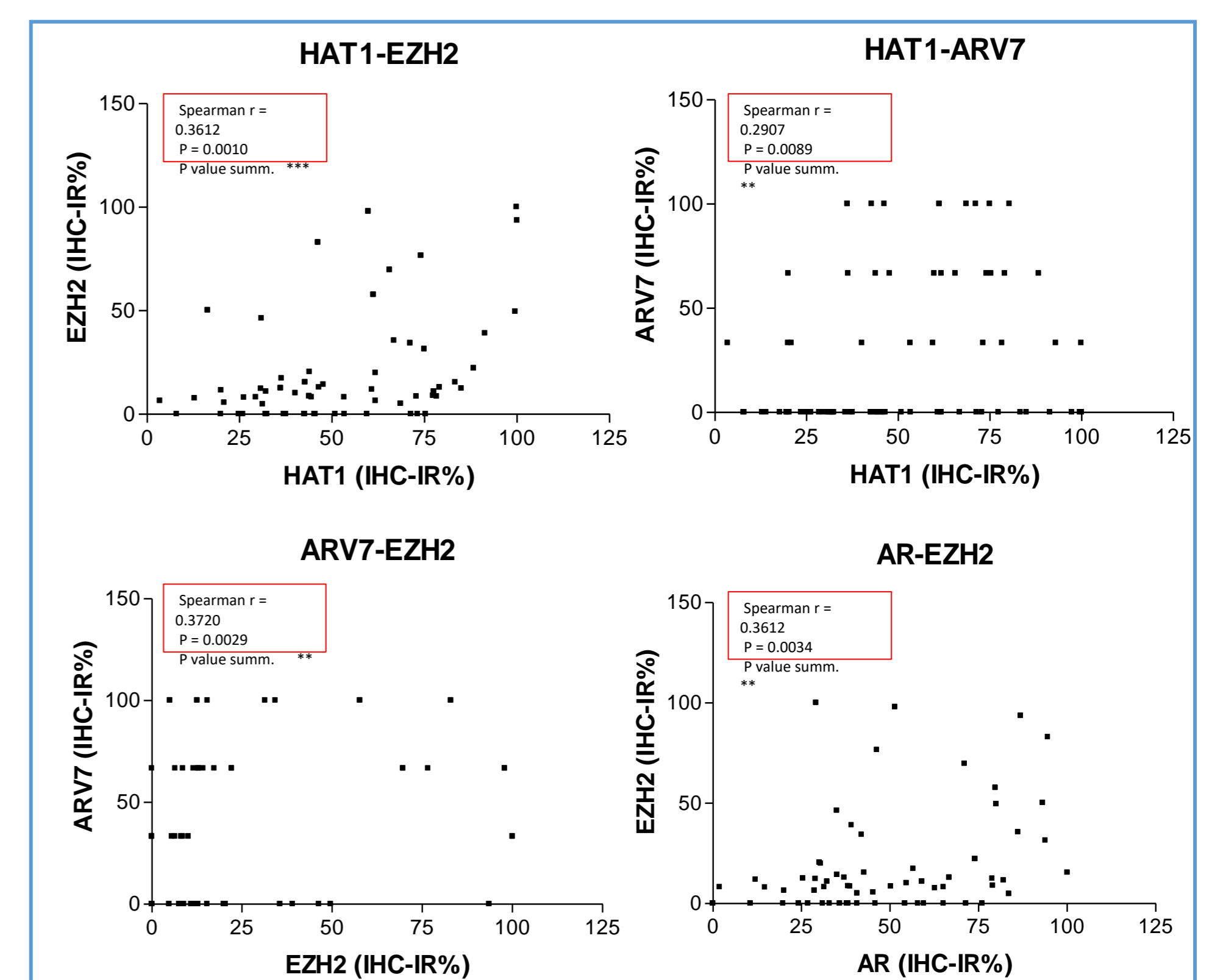


Fig.6.- Análisis de correlación entre los marcadores. Observamos correlación entre HAT1, EZH2 y ARV7. Solamente EZH2 se correlaciona con los niveles de AR.

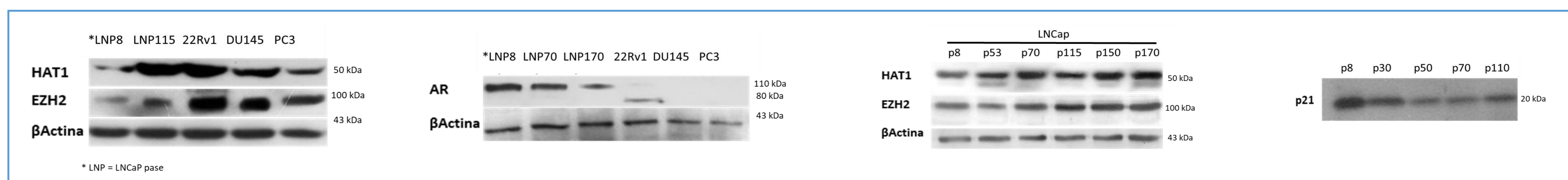


Fig.7.- HAT1 y EZH2 se expresan en todas las líneas tumorales analizadas, tanto sensibles a andrógenos (LNCaP y 22RV1) como hormono-resistentes (PC3, DU145). Estas últimas no expresan el AR. En células LNCaP, sensibles a andrógenos, observamos una disminución de los niveles de AR en función del tiempo en cultivo (número de pases), especialmente a partir del pase 70. Las células 22RV1 expresan especialmente la variante 7 del AR. HAT1 y EZH2 aumentan en células LNCaP a medida que aumenta el número de pases, lo que coincide con una disminución del AR. P21 es un supresor de tumores, regulado negativamente por hipermetilación de su promotor en Ca prostático. Esta represión depende de EZH2. Observamos una pérdida progresiva de los niveles de p21 coincidiendo con el aumento progresivo de EZH2 en LNCaP mantenidas largo tiempo en cultivo.

CONCLUSIONES

HAT1 podría ser de utilidad clínica-pronóstica en cáncer de próstata, ya que está relacionada con una mayor invasividad, el desarrollo de progresión clínica, HR y muerte del paciente. Los niveles de HAT1, EZH2 y ARV7 muestran una correlación positiva entre sí en cáncer prostático, lo que se relaciona con el desarrollo de tumores resistentes al bloqueo androgénico. Es necesario analizar la posibilidad de que HAT1 intervenga en la regulación de los niveles de EZH2 en modelos celulares.