

piRNAs, un nuevo campo de biomarcadores en cáncer

Joaquín Pérez-Alvarado, José Miguel Moreno-Ortiz

Universidad de la Ciénega del estado de Michoacán de Ocampo

RESUMEN.

Los piRNA son secuencias de 24 a 32 nucleótidos asociados a proteínas PIWI de la familia argonauta, la cual posee propiedad endonucleasa. Son sintetizados a partir de regiones intergénicas repetitivas y su principal función, es el silenciamiento de transposones, sin embargo, se ha encontrado que su descontrol está asociado con el desarrollo de diversos tipos de cáncer. Varios piRNAs han sido propuestos como biomarcadores del desarrollo tumoral, sin embargo, no en todos los tipos de cáncer han sido estudiados, siendo el cáncer de mama y el cáncer gástrico los que encabezan la lista con un mayor número de publicaciones. El presente trabajo, se centra en conocer los piRNAs de mayor relevancia en tipos específicos de cáncer con la finalidad de promover su análisis en casos de cáncer en los que han sido poco estudiados, o que predominan epidemiológicamente en ciertas poblaciones.

Palabras Clave: piRNA, cáncer, biomarcadores

ABSTRACT

piRNAs A NEW BIOMARKER FIELD IN CANCER

The piRNAs are sequences from 24 to 32 nucleotides associated with PIWI proteins from the ArgonAUTa family, which possesses endonuclease holdings. They are synthesized from repetitive intergenic regions and their main function is the silencing of transposons, however, it has been found that its lack of control is associated with the development of various types of cancer. Several piRNAs have been associated as biomarkers of tumor development, however, It has not been studied in all types of cancer, recent investigations show that breast and gastric cancer are on top of the list with more publications related with piRNAs. Therefore, the present review focuses on knowing the most relevant piRNAs in specific types of cancer, in order to promote their analysis in the poorly studied cancer or that predominate epidemiologically in certain populations.

Keywords: piRNA, cancer, biomarkers

Autor para correspondencia: Joaquín Pérez Alvarado, Universidad de la Ciénega del estado de Michoacán de Ocampo.
E-mail: joako_peres@hotmail.com

Recibido: el 12 de enero de 2017 **Aceptado para publicación:** el 06 de junio de 2017
Fecha de publicación:

Copyright © 2017 por autores (s) y Revista Biomédica.
Este trabajo esta licenciado bajo las atribuciones de la Creative Commons (CC BY).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>
Fecha de publicación: 14 de junio de 2017

Este documento está disponible en <http://www.revistabiomedica.mx>

INTRODUCCIÓN

Los piRNAs, son pequeñas secuencias de RNA con un tamaño entre 24 y 32 nucleótidos (1-3). Son moléculas estables debido a la presencia de un grupo metilo en su extremo 3' (4) y una preferencia por uridina en su extremo 5' (5). Su función principal está relacionada con el silenciamiento génico en células germinales en animales (2,6,7) y participa en la conservación del genoma mediante la represión de transposones (7,8). Los piRNAs son sintetizados a partir de regiones repetitivas intergénicas, aunque, nunca se ha encontrado una región promotora específica en la secuencia a ser transcrita (2,4). El proceso de biogénesis es similar al de cualquier RNA pequeño, difiriendo en que los piRNAs recién producidos se asocian a una proteína específica de la familia argonauta denominada PIWI, la cual cuenta con actividad endonucleasa y permitirá regular transposones (4,9,10). Dicha actividad endonucleasa está determinada porque, parte de la estructura de PIWI, presenta una región perteneciente a la familia de RNasa H que le da esa característica y que comparte con otras enzimas con actividad nucleasa y polinucleotidil transferasa (11). Debido a que los piRNAs participan en el silenciamiento génico, la atención se ha centrado en su mecanismo de acción ya que, un descontrol de los elementos transponibles puede provocar una inestabilidad en el genoma, desencadenando una tumorigénesis, por lo que los piRNAs podrían funcionar como un mecanismo de inhibición de la transposición (12). Por ello, es necesario elucidar el papel que juegan en las enfermedades humanas y, más en aquellas que son difíciles de combatir como lo es el cáncer.

Silenciamiento génico. Los transposones juegan un papel importante en el organismo, debido a que pueden causar mutaciones en el DNA durante su transposición alterando la conformación del genoma y repercutiendo posiblemente en el desarrollo de cáncer (13), por lo que los organismos

deben controlar la movilidad de los transposones, en especial en células germinales y así asegurar que la próxima generación no tendrá efectos derivados por los elementos transponibles, ya que alteraciones en este tipo de células pueden pasar a la descendencia (14), a diferencia de las células somáticas en donde las alteraciones genéticas no pueden transmitirse de generación en generación (15), es por esto que las células germinales han desarrollado métodos efectivos para el control y silenciamiento mediante los llamados piRNAs (14). Los dos métodos mayormente descritos son: el silenciamiento génico mediante “*ping pong*” y el silenciamiento epigenético (16,17). El mecanismo más conocido es el de *ping pong*, en el cual el complejo que conforma a todo el piRNA sufre algunas modificaciones estructurales que finalmente le permitirán silenciar; una de estas es la unión con la proteína ZUC en el extremo 3' la cual permitirá que el piRNA se una a la proteína Aubergine (AUB) (16). La unión con la proteína ZUC es importante debido a su función de endonucleasa, por otro lado la proteína AUB tiene preferencia por fragmentos que contienen uracilo en su extremo 5' terminal. Posteriormente la proteína HEN-1 catalizará la metilación del oxígeno en 2' del piRNA (16,18). La modificación más relevante finalmente es la incorporación de dimetil arginina simétrica (sDMA) al extremo 3' del piRNA causando cambios en su grupo amino terminal, este sDMA es detectado y encapsulado por un complejo proteico situado en los transposones llamado krimper (Krimp) que encapsula al grupo sDMA, para que posteriormente, el piRNA pueda degradar el transposón (3,4,16).

En el silenciamiento por epigenética, el piRNA es transferido al núcleo después de que HEN-1 medió la metilación como parte de las modificaciones estructurales que sufrió el piRNA, ya en el núcleo el piRNA tendrá la capacidad de metilar a las histonas presentes en la cromatina induciendo la formación de heterocromatina, lo que trae como consecuencia que el transposón ya

no sea transcripcionalmente activo (3). Además se sabe que los piRNAs actúan en la vía de señalización de DNMT3L, proteína perteneciente a la familia de las ADN metiltransferasas y la cual juega un papel esencial en la metilación y represión de transposones estableciendo patrones de metilación, la pérdida del piRNA en esta ruta impide el reconocimiento y silenciamiento de transposones potencialmente activos por la vía DNMT3L (19).

piRNA de relevancia en cáncer. En los últimos años se han generado nuevas investigaciones en torno al papel que pueden tener los piRNAs en el desarrollo de neoplasias y como estos pudieran ser utilizados como biomarcadores. Específicamente el cáncer de mama y el cáncer gástrico, son los tipos de cáncer en los que se ha generado la mayor cantidad de estudios; al respecto Ng *et al* (2016) hicieron la revisión más extensa sobre piRNAs identificados hasta el momento, pero pocos trabajos similares incluyendo información de nuevos piRNAs ha surgido después. En cáncer de mama, cuatro piRNAs han mostrado mayor relevancia: piR-4987, piR-20365, piR-20485 y piR-20582; los cuales se han asociado con la progresión tumoral, además de que podrían estar implicados en otros procesos biológicos claves en el desarrollo de la enfermedad (20). También se ha descrito que algunos piRNAs podrían tener un papel metilador de genes relacionados con este tipo de cáncer, tal es el caso de piR-932, que al unirse con la proteína PIWIL2 forman un complejo que participa en la metilación de regiones promotoras (21), posiblemente silenciando genes mediante el mecanismo epigenético. Por ello los piRNAs pueden ser utilizados como biomarcadores contra este tipo de cáncer (22).

Por otro lado, en cáncer gástrico se ha propuesto utilizar piR-823 como un biomarcador, ya que *in vitro* utilizando líneas celulares de cáncer gástrico se demostró una disminución significativa del crecimiento celular después de que fueron

transfectadas con piR-823. Por otro lado *in vivo* utilizando ratones se observó que al aumentar los niveles de piR-823, se inhibía de igual manera la proliferación celular, por lo que a este piRNA se le ha atribuido una actividad supresora de tumores (23). Se ha observado también que piR-823 se encuentra poco expresado en células tumorales en comparación con tejido normal; pero después de aumentar la expresión de piR-823 en células de cáncer gástrico, el crecimiento celular es inhibido (24). Además, al medir los niveles de piRNA-823 en sangre periférica se encontró que este había disminuido en pacientes con cáncer gástrico comparado con un grupo control (25). Otro piRNA estudiado en este tipo de cáncer es piR-651, sobreexpresado en muestras tumorales. Se ha demostrado en líneas celulares de cáncer gástrico que la inhibición de piR-651 suprime el crecimiento celular dependiendo de la dosis, deteniendo el ciclo celular en la etapa G2 (26). piR-651 y piR-823 se han identificado en cáncer de mama (27), y particularmente piR-651 se ha detectado en carcinoma hepático, cáncer cervical y cáncer de pulmón, lo que lo coloca como una molécula relevante para investigación (24).

Existen otros tipos de cáncer en donde la cantidad de estudios sobre piRNAs identificados es menor, en comparación con los cánceres descritos anteriormente, tal es el caso de cáncer de riñón, en donde se han identificado 19 piRNAs, los cuales han mostrado diferencias de expresión entre células malignas y células normales, estas diferencias de expresión los hacen ser moléculas clave para proponerlas como marcadores moleculares, sin embargo, solo 3 han estado mayormente asociados: piR-32051, piR-39894 y piR-43607; cuya sobreexpresión se relaciona con el desarrollo de metástasis en carcinoma de células renales de células claras (28). Por otro lado piR-823, que como se había mencionado ha sido identificado en cáncer de mama y cáncer gástrico, también se ha visto su participación en cáncer de riñón proponiéndolo como posible

marcador mediante su detección en muestras de orina (29).

En cáncer de hígado, el piRNA que podría resultar más promisorio sería piR-HEP1, el cual no ha sido descrito en otros tipos de cáncer pero se sospecha que su mecanismo de acción está asociado con la inducción de la apoptosis de células cancerosas de hígado (24). Un estudio más reciente revela una expresión alterada de 31 piRNAs comparando dicha expresión en tejidos malignos y sanos (30). Sin embargo serían necesarios más estudios para conocer aquellos piRNAs que tienen una participación de mayor relevancia sobre alguna de las etapas en este tipo de cáncer.

Para cáncer pancreático, piR-017061 ha sido propuesto como posible marcador con una notable influencia sobre la carcinogénesis, puesto que su sobreexpresión en células malignas de cáncer pancreático, sugiere que se encuentra silenciando genes en células malignas ya que en células normales no se encontró esta expresión alterada (31). Por otro lado, en cáncer de pulmón también se ha sugerido la participación de piR-L-163 en la regulación del ciclo celular, al ser expresado de manera alterada (24) y no solamente en cáncer gástrico como anteriormente se sabía (32,33). De hecho, piR-L-163 también se encontró expresado en líneas celulares de cáncer de próstata junto con piR-823 lo cual sugiere que esta expresión puede variar dependiendo de los niveles hormonales no solo en este y sino en otros tipos de cáncer (27). Finalmente en cáncer de pene se analizó también la presencia de piRNAs destacando diez como los más abundantes: piR-49145, piR-34811, piR-49143, piR-36041, piR-33880, piR-49144, piR-35280, piR-43773, piR-33081 y piR-36173 (34); sin embargo, harían falta más estudios para determinar el tipo de asociación que presentan y si estos podrían ser utilizados como posibles biomarcadores.

CONCLUSIÓN

Desde su descubrimiento los RNA pequeños han mostrado tener un papel fundamental en

el desarrollo de cáncer. Los piRNAs juegan un rol importante derivado del silenciamiento de transposones, evitando la transposición, la aparición de mutaciones y por ende una posible carcinogénesis, por lo que la presente revisión muestra piRNAs específicos que han mostrado estar involucrados con el desarrollo de cáncer en alguna de sus fases. Con base en estos datos, podrían ser considerados como posibles biomarcadores; piR-651 y piR-823 debido a que por el momento son los piRNAs con mayor cantidad de estudios de asociación en diversos tipos de cáncer, destacando cáncer de mama y cáncer gástrico. Por el contrario, no existe evidencia sobre la participación específica de piRNAs en otros tipos de cáncer como cervicouterino, de ovario, de esófago, de vejiga, etc., que se encuentran entre los más frecuentes a nivel mundial. En consecuencia, resulta interesante el poder analizar la utilidad de cada uno de estos piRNAs en población mexicana, tomando en cuenta que pueden existir diferencias poblacionales y que los cánceres más frecuentes en esta población son diferentes a las de otros países.

REFERENCIAS

1. Flores F, Martínez MA, Arenas C, Covarrubias A, Reyes, JL. ¡Silencio Mensajer! Qué son y Cómo actúan Los MicroRNAs. REB. 2007 Nov; 26(4): 135-45.
2. Homolka D, Pandey RR, Goriaux C, Brassat E, Vaury C, Sachidanandam R, et al. PIWI Slicing and RNA Elements in Precursors instruct Directional Primary piRNA Biogenesis. Cell Rep. 2015 July;12 (3): 418-28.
3. Iwasaki Y, Siomi M. Siomi H. PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. Ann Rev. 2015 June; (84): 405-33.
4. Ishizu H, Siomi H, Siomi MC. Biology of PIWI-interacting RNAs: new insights into biogenesis and function inside and outside of germlines. Genes Dev. 2012 Nov; 26(21): 2361-73.
5. Gou LT, Dai P, Liu MF. Small noncoding RNAs and male infertility. Wiley interdiscip Rev RNA. 2014 Nov-Dec; 5(6): 733-45.

6. Kutter C, Sovoboda P. miRNA, SiRN, piRNA: Knowns of the unknown. *RNA Biol.* 2008 Oct-Dec; 5(4): 181-8.
7. Kim VN. Small RNAs just got bigger: PIWI-interacting RNAs (piRNAs) in mammalian testes. *Genes Dev.* 2006 Aug, 20(15): 1993-7.
8. Yamanaka S, Siomi MC, Siomi H. piRNA clusters and open chromatin structure. *Mob DNA.* 2014 Aug; 5(22): 1-12.
9. Siomi MC, Sato K, Pezic D, Aravin AA. PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defense. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011 apr; 12(4): 246-58.
10. Zamore PD. RNA silencing: genomic defence with a slice of pi. *Nature.* 2007 Apr; 446(7138): 864-5.
11. Song jj, Smith SK, Hannon GJ, Joshua. Crystal Structure of Argonaute and Its Implications for RISC Slicer Activity. *Science.* 2004 Sep 3; 305(5689):1434-7.
12. Sato K, Siomi MC. PIWI-interacting RNAs: Biological functions and biogenesis. *Essays Biochem.* 2013; (54): 39-52.
13. Bamezai S, Rawat VP, Buske C. Concise review: The PIWI-piRNA axis: pivotal beyond transposon silencing. *Stem Cells.* 2012 Dec; 30(12): 2603-11.
14. Duarte-Dias M. Genetic requeriments for PIWI-induced stable transgenerational gene silencing in *Caenorhabditis elegans*. Tesis para obtener el título de maestria en biología evolutiva y desarrollo. Universidad de Lisboa, facultad de ciencias. Portugal.2012.
15. Collier LS, Largaespada DA. Transposable elements and the dynamic somatic genome. *Genome Biol.* 2007 Oct 31; 8: 1-5.
16. Czech B, Hannon GJ. One Loop to rule Them All: The Ping-Pong Cycle and piRNA-Guided Silencing. *Trends Biochem Sci.* 2016 April; 41(4): 324-37.
17. Esteller M. Non-Coding RNAs in human disease. *Nat.* 2011 Dec; (12): 861-74.
18. Tóth KF, Pezic D, Stuwe E, Webster A. The piRNA Pathway Guards the Germline Genome Against Transposable Elements. *Adv Exp Med Biol.* 2016 Aug 9; 886: 51-77.
19. Aravin AA, Sachidanandam R, Bourc'his D, Schaefer C, Pezic D, Toth KF, et al. A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice. *Mol Cell.* 2008 Sep 26; 31(6): 785-99.
20. Huang G, Hu H, Xue X, Shen S, Gao E, Guo G, et al. Altered expression of piRNAs and their relation with clinicopathologic features of breast cancer. *Clin Transl Oncol.* 2013 Jul; 15(7): 563-8.
21. Zhang H, Ren Y, Xu H, Pang D, Duan C, Liu C. The expression of stem cell protein Piwil2 and piR-932 in breast cancer. *Surg Oncol.* 2013 Dec; 22(4): 217-23.
22. Krishnan P, Ghosh S, Graham K, Mackey JR, Kovalchuk O, Damaraju S. PIWI-interacting RNAs and PIWI genes as novel prognostic markers for breast cancer. *Oncotarget.* 2016 Jun; 7(25): 37944-56.
23. Cheng J, Deng H, Xiao B, Zhou H, Zhou F, Shen Z, et al. piR-823, a novel non-coding small RNA, demonstrates in vitro and in vivo tumor suppressive activity in human gastric cancer cells. *Cancer lett.* 2012 Feb; 315(1): 12-7.
24. Ng KW, Anderson C, Marshall EA, Minatel BC, Enfield KS, Saprunoff HL, et al. PIWI-interacting RNAs in cancer: emerging functions and clinical utility. *Mol Cancer.* 2016 Jan; 15(5): 1-13.
25. Zhang M, Du X. Noncoding RNAs in gastric cancer: Research progress and prospects. *World J Gastroenterol.* 2016 Aug; 22(29): 6610-8.
26. Cheng J, Guo JM, Xiao BX, Miao Y, Jiang Z, Zhou H, et al. piRNA, the new non-coding RNA, is aberrantly expressed in human cancer cells. *Clin Chim Acta.* 2011 Aug; 412(17-18): 1621-25.
27. Öner Ç, Turgut-Coşan D, Çolak E. Estrogen and Androgen Hormone Levels Modulate the Expression of PIWI Interacting RNA in Prostate and Breast Cancer. *PLoS One.* 2016 Jul 14; 11(17): 1-15.
28. Li Y, Wu X, Gao H, Jin JM, Li AX, Kim YS, et al. (2015). PIWI-Interacting RNAs (piRNAs) Are Dysregulated in Renal Cell Carcinoma and Associated with Tumor Metastasis and Cancer-Specific Survival. *Mol Med.* 2015 May; (21): 381-8.
29. Iliev R, Fedorko M, Machackova T, Mlcochova H, Svoboda M, Pacik D, et al. Expression Levels of PIWI-interacting RNA, piR8-23, Are Deregulated in Tumor Tissue, Blood Serum and Urine of Patients with Renal Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* 2016 Dec; 36(12): 6419-23.
30. Rizzo F, Rinaldi A, Marchese G, Coviello E, Sellitto A, Cordella A, et al. Specific patterns of PIWI-interacting small noncoding RNA expression in dysplastic liver nodules and hepatocellular carcinoma. *Oncotarget.* 2016 Jul; 7(34): 54650-61.
31. Müller S, Raulefs S, Bruns P, Alfonso-Grunz F, Plötner A, Thermann R, et al. Next-generation sequencing reveals novel differentially regulated mRNAs Inc-RNAs, miRNAs, sdRNAs, and a piRNA in pancreatic cancer. *Mol cáncer.* 2015 Apr; 14(94): 1-18.
32. Li D, Luo Y, Gao Y, Yang Y, Wang Y, Xu Y, et al. piR-651 promotes tumor formation in non-small cell lung

- carcinoma through the upregulation of cyclin D1 and CDK4. *Int J Mol Med*. 2016 Sep; 38(3): 927-36.
33. Yao J, Wang YW, Fang BB, Zhang SJ, Cheng BL. piR-651 and its function in 95-D lung cancer cells. *Biomed Rep*. 2016 May; 4(5): 546-50.
34. Zhang L, Wei P, Shen X, Zhang Y, Xu B, Zhou J, et al. MicroRNA Expression Profile in Penile Cancer Revealed by Next-Generation Small RNA Sequencing. *PLoS One*. 2015 Jul 9; 10(17): 1-24.