



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA



LICENCIATURA EN BIOMEDICINA

INSTITUTO DE FISIOLÓGIA

LABORATORIO DE NEUROENDOCRINOLOGÍA

“KISSPEPTINA Y SU PARTICIPACIÓN EN EL DESARROLLO Y
LA PROGRESIÓN DEL CÁNCER”

TESIS

Para obtener el grado de:

Licenciado en Biomedicina

Presenta:

EMILIO ERNESTO HERNÁNDEZ GONZÁLEZ

Director de Tesis:

D.C. EDUARDO MONJARAZ GUZMÁN

Eduardo Monjaraz G

NOVIEMBRE 2022

Revisora Facultad de Medicina:

Dra. Marta Elena Caballero Hernández

Revisora Instituto de Fisiología:

Dra. Amira del Rayo Flores Urbina

Índice

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES GENERALES	7
ESTADÍSTICAS SOBRE EL CÁNCER A NIVEL MUNDIAL	7
Morbilidad en población de 20 años y más	9
FACTORES DE RIESGO	10
Factores Hereditarios	10
• Antecedentes familiares de cáncer:	10
a) Genes supresores de tumores	11
b) Síndrome hereditario de cáncer de mama y ovario	11
c) Síndrome de Li-Fraumeni	11
Factores Epigénéticos	12
a) Modificación de las histonas	12
b) Metilación del ADN	13
c) Hipermetilación del ADN	13
Gen <i>KISS-1</i>	14
Kisspeptinas	15
Receptor acoplado a proteína G 54	15
RELACION ENTRE LAS KISSPEPTINAS Y LOS DIFERENTES TIPOS DE CÁNCER	17
1. Cáncer de mama	18
2. Cáncer colorrectal	20
3. Cáncer de endometrio	23
4. Cáncer de próstata	26
5. Cáncer de tiroides	28
6. Cáncer de vejiga	33
7. Cáncer gástrico	40
8. Cáncer de ovario	45
9. Cáncer pancreático	51
10. Colangiocarcinoma	53
11. Carcinoma adrenocortical	56
12. Cáncer renal	59

13.	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello	61
14.	Carcinoma de células escamosas de esófago.	64
15.	Carcinoma nasofaríngeo	66
16.	Carcinoma hepatocelular	69
17.	Melanoma	73
18.	Mesotelioma	77
19.	Osteosarcoma	84
	Conclusiones	89
	REFERENCIAS	91
	ANEXO	104

ABREVIATURAS

AGR2: Gradiente Anterior 2

AMPK: Proteína cinasa activada por monofosfato de adenosina

ANXA1: Anexina 1

ATG5: Proteína de autofagia 5

BCRP: Proteína de resistencia del cáncer de mama

BMP7: Proteína morfogenética ósea 7

BRMS1: Supresor de metástasis de cáncer de mama

CDH2: Cadherina-2

CDK2: Cinasa dependiente de ciclina 2

CDX2: Proteína caudal homeobox 2

CHFR: Punto de control con dominios de cabeza de horquilla y de dedo de zinc RING

CpGI: Islas CpG

CRSP3: Cofactor requerido para la activación de Sp1

CSAD: Descarboxilasa de ácido sulfínico de cisteína

C-Src: Proteína protooncogén tirosina-quinasa Src

DNMT3: ADN (citosina-5) metiltransferasa

DUB: Enzimas de disociación de ubiquitina

E1: Enzima activadora de ubiquitina.

E2: Enzima de unión a ubiquitina

E3: Ligasas proteína-ubiquitina

EDNRB: Receptor de endotelina tipo B

EGFR: Receptor del factor de crecimiento humano

EIF2AK2: Factor de iniciación de la traducción eucariota 2 alfa quinasa 2

EMAPII: Polipéptido activador de monocitos endoteliales II

EMT: Transición epitelio mesénquima

EREG: Epiregulina

ERK: Cinasas reguladas pro señales extracelulares

FN1: Fibronectina

GAS6: Proteína de detención del crecimiento específico 6

HOXA3: Homeobox 3

IFI27: Proteína 27 inducible por interferón alfa

JAG1: Ligando de muesca canónica irregular 1

JNK: Cinasas c-Jun N-terminal

KAI1: Kangai-1

KISS-1: Kisspeptina

KISS-1R: Receptor de Kisspeptina

Kp: Kisspeptina

KRT13: Keratina 13

LC3-I: Proteína asociada al microtúbulo 1 cadena ligera 3

LC3-II: Proteína asociada al microtúbulo 2 cadena ligera 3

LKB1: Quinasa hepática B1

MAPK8: Proteína quinasa 8 activada por mitógeno.

MKK4: Proteína quinasa quinasa 4 activada por mitógeno

MLH1: Homólogo 1 de mutL humano

MMP-2: Metaloproteínasa de matriz 2

MMP-8: Metaloproteínasa de matriz 8

MMP-9: Metaloproteínasa de matriz 9

MMP-14: Metaloproteínasa de matriz 14

nm-23-H1: Proteína no metastásica 23-H1

PARP: Poli (ADP-ribosa) polimerasa

PKD: Proteína quinasa D

PKR: Proteína quinasa R

PPARG: Receptor gamma activado por proliferación de peroxisomas

PP2A: Proteína fosfatasa 2 A

PXN: Paxilina

SDF-1: Factor 1 derivado del estroma

SEPT9: Septina 9

SIRT1: Sirtuína-1 desacetilasa dependiente de NAD

STAT: Transductor de señal y activador de transcripción

SOD2: Superóxido dismutasa 2

TEM: Transición Epitelio-Mesénquima

TCF21: Factor de transcripción 21

TXNIP: Proteína que interactúa con tiorredoxina

UHRF1: Proteína similar a ubiquitina con dominios PHD y RING-finger

3'UTR: Región 3 prima no traducida

WASF3: Miembro 3 de la familia de proteínas del síndrome Wiskott-Aldrich

RESUMEN

El cáncer es la segunda causa de mortalidad y representa aproximadamente 1 de cada 6 muertes a nivel mundial. En cualquier momento del desarrollo, el cuerpo contiene células con potencial maligno o características neoplásicas. En el huésped sano, estas células son detectadas y destruidas por el sistema inmunológico. Sin embargo, bajo diversas condiciones fisiológicas estas células pueden escapar de la vigilancia inmunológica del cuerpo, lo que resulta en una seria amenaza para la vida. El cuerpo produce moléculas que pueden inhibir o promover el desarrollo de un tumor y su potencial metastásico; identificar y estudiar estos factores es esencial para el tratamiento del cáncer.

En 1996, Lee y colaboradores, en la Facultad de Medicina de la Universidad Estatal de Pensilvania, realizaron estudios para identificar los genes responsables de la supresión de metástasis ubicados en el cromosoma 6. Su trabajo llevó al descubrimiento de un nuevo cDNA designado como KiSS-1. Este nombre fue elegido para indicar que el cDNA codificaba una secuencia supresora de metástasis y reconocer en su hallazgo a la localidad de Hershey, Pensilvania, hogar de los mundialmente famosos chocolates Kisses.

En el estudio original, Lee y colaboradores, en 1996, informaron que, entre un panel de células de melanoma, KiSS-1 se expresó solo en melanoma no metastásico y, cuando KiSS-1 exógeno se expresaba en células C8161, la metástasis se suprimía de manera dosis-dependiente. Así, concluyeron que KiSS-1 suprime el potencial metastásico de las células malignas de melanoma.

A partir de este estudio inicial, KiSS-1, el producto principal y completo de 145 aminoácidos y sus derivados de 54, 14, 13 y 10 aminoácidos, llamados kisspeptinas, así como su receptor afín KiSS-1R (anteriormente llamado GPR54) han mostrado funciones anti metastásicas y/o antitumorales en numerosos tipos de cáncer, por ejemplo, de vejiga, ovario, colorrectal, páncreas, próstata y tiroides (Stathaki *et al.*, 2019).

La activación del sistema KiSS-1/KiSS-1R ha demostrado tener múltiples efectos sobre la biología del cáncer, incluida la supresión de la motilidad, ensayo de cierre de heridas, proliferación celular, arresto del ciclo celular y supresión del potencial metastásico e invasivo. Hasta ahora, el mecanismo específico de la función anti metastásica no ha sido

dilucidado por completo, sin embargo, se han identificado cambios intracelulares en vías de señalización activadas por KiSS-1.

La estimulación de KiSS-1R por KiSS-1 conduce a la fosforilación de la cinasa de adhesión focal (FAK) lo que provoca la formación de adherencias focales excesivas y fibras de tensión, explicando así la acción de KiSS-1 sobre la inhibición de la quimiotaxis. Además, la activación de KiSS-1R reduce la actividad de calcineurina, lo que contribuye a la supresión de la metástasis. Se ha demostrado que un posible mecanismo de acción de KiSS-1 es a través del incremento de Ca^{++} intracelular, el cual inhibe la proliferación celular y aumenta la diferenciación celular y apoptosis. De esta manera KiSS-1, podría actuar como gen supresor y, la activación de la cascada de señalización de KiSS-1 inhibe la invasión de células cancerígenas, formación de metástasis y la recurrencia del tumor (Cho S. G. *et al.*, 2009).

Este estudio destaca las investigaciones más relevantes desarrolladas por distintos grupos, con respecto a KiSS-1 y su participación en una variedad de cánceres, desde su descubrimiento en 1996 por Lee y colaboradores, hasta el más reciente estudio en el año 2022.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) el cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación descontrolado de células malignas, estas pueden llegar a extenderse más allá de sus límites normales, además de tener la capacidad de invadir sitios adyacentes o propagarse a otros órganos en un proceso conocido como metástasis (OMS, 2015).

Esta enfermedad se puede desarrollar a cualquier edad; mientras algunos tipos de cáncer tienen mayor presencia conforme se incrementa la edad de las personas, existen tumores malignos que son más frecuentes entre la población con menos de 20 años, como el neuroblastoma, el cáncer de hueso y algunos tipos de leucemia (National Cancer Institute, 2015).

Con el conocimiento actual, se sabe que el proceso mediante el cual las células normales se convierten paulatinamente en malignas requiere de la adquisición secuencial de mutaciones que surgen como consecuencia del daño al genoma, resultado de procesos endógenos que pueden ser errores durante la replicación del ADN, inestabilidad química intrínseca de ciertas bases del ADN o por el ataque de radicales libres generados durante procesos metabólicos. El daño en la doble hélice de ADN también puede ser resultado de interacciones con agentes exógenos, tales como carcinógenos químicos, radiación ionizante, radiación UV, malos hábitos de consumo como el tabaquismo o alcoholismo. A pesar de que las células han desarrollado procesos para reparar dichos daños, por una razón u otra se producen errores y se introducen cambios permanentes en el genoma provocando mutaciones (Bertram 2000), si estas mutaciones llegan a afectar genes que participan en la proliferación inactivando genes supresores de tumores o bien activando oncogenes que estimulan la proliferación o la protección contra la muerte celular su potencial maligno aumenta de forma considerable.

Finalmente, al superar los controles normales sobre la supervivencia y la muerte celular, una célula cancerosa enfrenta dos nuevos desafíos, superar la senescencia replicativa y obtener un suministro adecuado de nutrientes y oxígeno para mantener su alta tasa proliferativa y tener éxito desarrollando un tumor (Sever & Brugge, 2015).

ANTECEDENTES GENERALES

ESTADÍSTICAS SOBRE EL CÁNCER A NIVEL MUNDIAL

En el año 2020, GLOBOCAN reportó 19.2 millones de nuevos casos de cáncer y 9.9 millones de muertes provocadas por este padecimiento, observándose un incremento significativo en los países en desarrollo (GLOBOCAN 2020). Por otra parte, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) calcula que para el año 2040 habrá 28.6 millones de nuevos casos de todo tipo de cáncer, donde 12.9 millones de personas morirán a causa de este padecimiento (OMS; IARC, 2020).

La distribución de la incidencia y mortalidad por cáncer según la región del mundo para ambos sexos. La mitad de todos los casos y el 58.3% de muertes ocurrieron en Asia en 2020, donde 59.5% de la población global reside. Europa concentra el 22.8% del total de casos de cáncer y el 19.6% de las muertes causadas por el mismo, aunque representa el 9.7% de la población mundial, seguida por América con el 20.9% de incidencia y el 14.2% de mortalidad a nivel mundial. En contraste con otras regiones, la proporción de muertes por cáncer en Asia (58.3%) y África (7.1%) es mayor que la proporción de la incidencia (49.3% y 5.7% respectivamente) debido a la diferente distribución de tipos de cáncer y tasas más altas de letalidad en estas regiones (GLOBOCAN) (Figura 1).

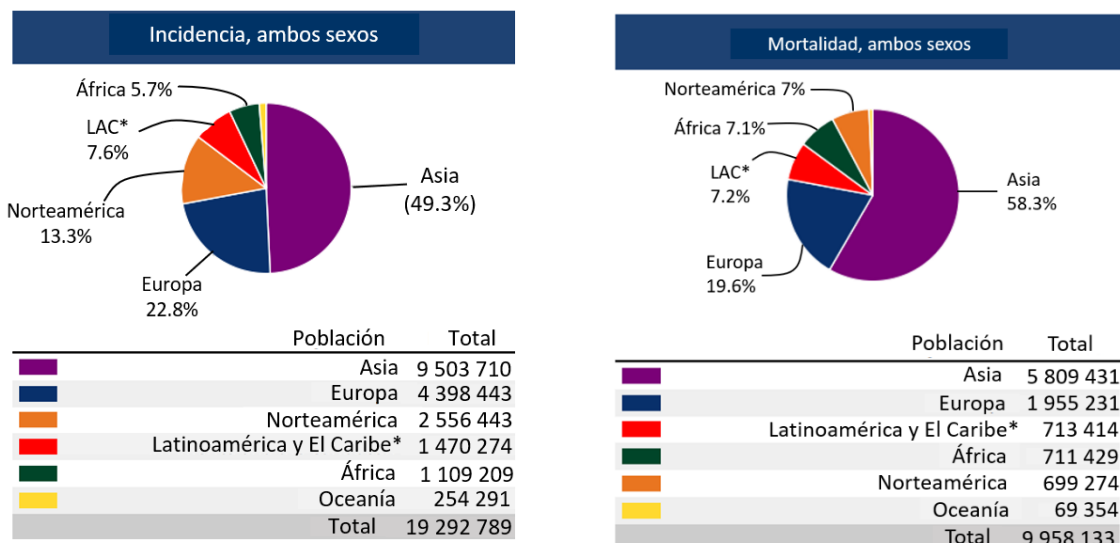


Figura 1 | Estadísticas a nivel mundial de nuevos casos y muertes por cáncer por regiones. Las gráficas señalan los porcentajes de incidencia y mortalidad de cáncer global dividida por regiones (Tomada y modificada de GLOBOCAN, 2020).

El cáncer de mama es el de mayor incidencia mundialmente (11.7% del total de casos), seguido por el cáncer de pulmón con 11.4%, colorrectal con 10%, de próstata con 7.3%, estómago con 5.6%, hígado representando el 4.7%, esófago con 3.1%, terminando con cérvico uterino, tiroides y vejiga (3.1%, 3% y 3% respectivamente) (Figura 2). Por otra parte, el cáncer de pulmón es la principal causa de muerte por cáncer (18% del total de muertes) seguido del colorrectal (9.4%), hígado con 8.3%, estómago 7.7%, cáncer de mama con 6.9%, esófago representando el 5.5% de casos, páncreas con 4.7%, próstata, cervicouterino y leucemia con el 3.8%, 3.4% y 3.1% respectivamente (GLOBOCAN) (Figura 2).

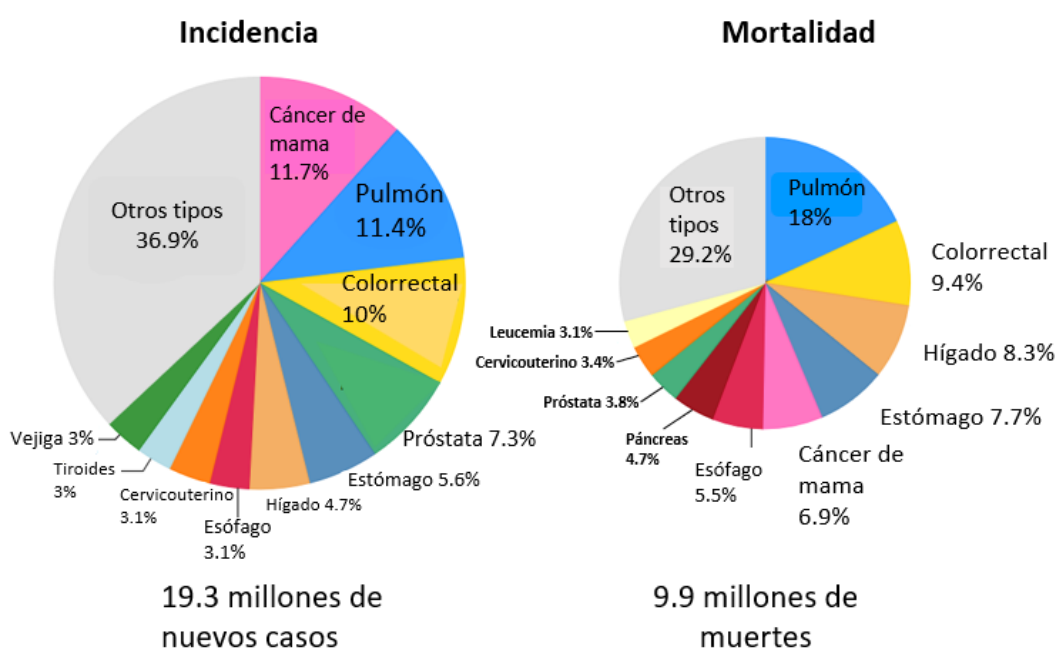


Figura 2 | Distribución de casos de los 10 cánceres más comunes en 2021. El área del gráfico refleja la proporción del número total de casos o muertes; los cánceres de piel no melanoma (excluyendo el carcinoma de células basales para la incidencia) están incluidos en la categoría 'otros tipos'. (Tomado y modificado de GLOBOCAN 2020).

En México, la magnitud de los efectos del cáncer en la salud no es muy diferente al panorama mundial, ya que, de acuerdo a los datos mostrados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), entre enero y agosto de 2020 se registraron 683 823 defunciones, de las cuales 9% se deben a tumores malignos (60 421). Un año antes, en 2019 se registraron 747 784 defunciones, de las cuales 12% se deben a tumores malignos (88,683) (INEGI 2021).

En el año 2020, el número de nuevos casos de cáncer en nuestro país fue alrededor de 195 499 personas, mientras que el número de muertes en ese mismo año fue de 90 222 (GLOBOCAN, 2020).

La tasa porcentual por sexo indica que hay más fallecimientos en mujeres (51%) que en los hombres (49%) por esta causa. Las tasas de defunciones por tumores malignos indican que, en los primeros grupos de edad (antes de los 30 años), no se superan las 12 defunciones por cada cien mil habitantes en cada grupo de edad y en los hombres las tasas son más altas que en las mujeres, aspecto que se revierte a partir de los 30 años y hasta los 59 años.

Morbilidad en población de 20 años y más

El cáncer de mama representa la principal causa de morbilidad hospitalaria por tumores malignos entre la población de 20 años y más, con 24 de cada 100 egresos hospitalarios para este grupo de edad; en las mujeres, 37 de cada 100 egresos y, en los hombres, 1 de cada 100 egresos. Se estima que constituye el 15.3% de todos los tipos de cáncer en el país, donde el número de nuevos casos durante el 2020 fue aproximadamente de 29 929 personas y de 7 931 muertes en el año, observándose que es uno de los tipos de cáncer con mayor prevalencia en la nación. El cáncer de próstata es la segunda causa de morbilidad hospitalaria (21%) en la población de 20 años y más. Por otra parte, el cáncer de órganos digestivos es la principal causa de morbilidad hospitalaria por tumores malignos entre los varones (23%), mientras en las mujeres ocupa el tercer lugar (12%) (INEGI, 2020) (Figura 3).

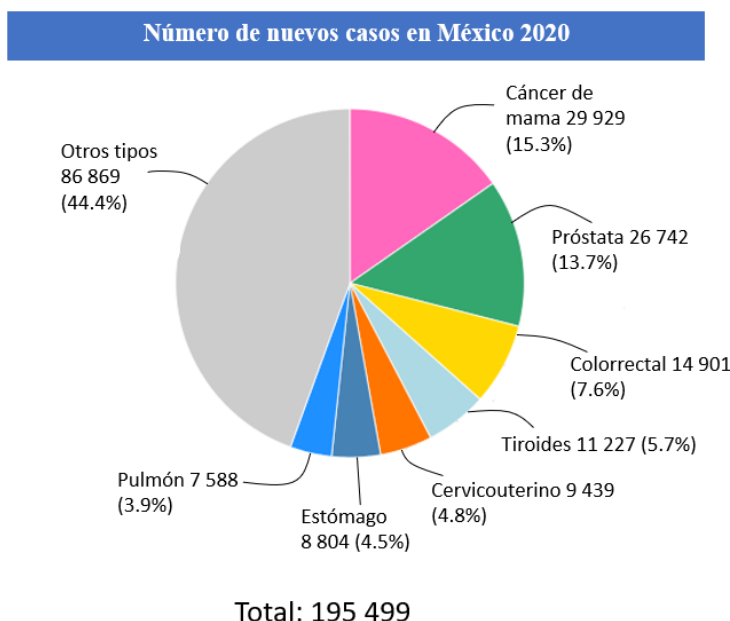


Figura 3 | Estadísticas del cáncer en México. Los tipos de cáncer con mayor incidencia en la población mexicana en ambos sexos son: cáncer de mama (15.3%), cáncer de próstata (13.7%), cáncer colorrectal (7.6%), cáncer de tiroides (5.7%), cervicouterino (4.8%), cáncer de estómago (4.5%), cáncer de pulmón (3.9%) y otros tipos de cáncer (44.4%). Estimaciones por cada 100 000 habitantes. (Tomada y modificada de IARC, 2020).

FACTORES DE RIESGO

Factores Hereditarios

De acuerdo al Instituto Nacional del Cáncer de EE.UU. un cáncer hereditario es causado por una mutación genética hereditaria. Significa que se transmite de padres a hijos dentro de una familia. Los siguientes factores sugieren un posible aumento del riesgo de cáncer hereditario:

- **Antecedentes familiares de cáncer:** Tener 3 o más parientes del mismo lado de la familia con el mismo tipo de cáncer o formas relacionadas.
- **Cáncer a temprana edad:** Tener 2 o más familiares diagnosticados con cáncer a temprana edad. Este factor puede diferir según el tipo de cáncer.
- **Múltiples cánceres:** Cuando un familiar desarrolla 2 o más tipos de cáncer.
- **Cánceres poco comunes:** Algunos tipos de cáncer como el cáncer de ovario, cáncer adrenocortical o el sarcoma, están relacionados con mutaciones genéticas hereditarias.

También llamadas mutaciones de línea germinal, son menos frecuentes. Una mutación de línea germinal se produce en células de esperma o en los óvulos. Se transmite directamente de padres a hijos en el momento de la concepción. A medida que el embrión crece y se desarrolla el bebé, la mutación del espermatozoide u óvulo inicial se copia en cada célula del cuerpo. Debido a que la mutación afecta a las células reproductivas, se puede transmitir de una generación a otra.

El cáncer causado por mutaciones de la línea germinal se denomina cáncer hereditario. Estas mutaciones genéticas heredadas suponen el 5-20% de todos los cánceres. Las mutaciones suceden con frecuencia, dicha mutación puede ser benigna, maligna o neutral. Esto depende del gen en el que tenga lugar el cambio. Por lo general, el cuerpo corrige la mayoría de las mutaciones. Una mutación única probablemente no cause cáncer, generalmente se producen a partir de múltiples mutaciones durante toda la vida, por este motivo, el cáncer se desarrolla con más frecuencia en personas de edad avanzada (Siegel R. L. *et al.*, 2022).

Se han descrito más de 50 genes específicos asociados con el cáncer hereditario que predisponen a las personas portadoras de estas mutaciones a tener ciertos tipos de cáncer.

Muchos de los genes que contribuyen al desarrollo de cáncer se dividen en amplias categorías:

- a) **Genes supresores de tumores.** Estos son genes protectores, normalmente limitan el crecimiento celular al monitorear que tan rápido se dividen las células, reparan errores en el ADN, controlan la muerte programada de las células. Cuando un gen supresor muta, las células pueden crecer descontroladamente y consecuentemente formar un tumor.
- b) **Síndrome hereditario de cáncer de mama y ovario.** El síndrome de cáncer hereditario de mama y ovario (SCHMO) es una condición que aumenta la probabilidad de desarrollar cáncer de mama, ovario y otros tipos de cáncer como páncreas, debido a la presencia de mutaciones germinales en los genes de susceptibilidad *BRCA1* o *BRCA2* localizados en el cromosoma 17q21 y 13q12 respectivamente. Los genes de *BRCA1* y *BRCA2* pertenecen a la familia de genes supresores de tumores e interactúan con funciones críticas en los mecanismos de reparación del ADN en el ciclo celular, controlan la proliferación celular y mantienen la estabilidad genómica. Específicamente, son inhibidores selectivos del crecimiento de células ováricas y mamarias y su expresión está regulada por estrógenos. La herencia de mutaciones en los BRCA es autosómica dominante, caracterizándose por una transmisión vertical donde la enfermedad se presenta en cada generación. El portador de una mutación (tanto hombres como mujeres) tiene un 50% de riesgo de transmitir la mutación a sus hijos (González-Teshima *et al.*, 2016).
- c) **Síndrome de Li-Fraumeni.** También conocido como síndrome SBLA (sarcoma, breast, leukemia, and adrenal gland por sus siglas en inglés), fue descrito en 1969 por Li y Fraumeni. Se caracteriza por la aparición de tumores en múltiples órganos, generalmente a edad temprana, entre los cuales los sarcomas de tejidos blandos, los osteosarcomas, el cáncer de mama en mujeres premenopáusicas, los tumores cerebrales, las leucemias agudas y el cáncer de la corteza suprarrenal, son los más frecuentes. Esta condición genética infrecuente se hereda con un patrón autosómico dominante y presenta una ‘penetrancia’ de ~70% en los hombres y de casi 100% en mujeres. El 70% de los pacientes con diagnóstico clínico de síndrome de Li-Fraumeni tiene una mutación germinal en el gen *TP53* y quienes cumplen con los criterios de

Chompret tienen 20% de probabilidades de presentar una mutación identificable en dicho gen. La enfermedad se presenta en dos formas clínicas: el síndrome de Li-Fraumeni clásico y el síndrome de tipo Li-Fraumeni, cuyos criterios clínicos de clasificación difieren, ya que en el síndrome de tipo Li-Fraumeni la prevalencia de mutaciones germinales en el gen *TP53* es menor. Una característica interesante del cáncer de mama asociado a mutaciones en el gen *TP53* es que su fenotipo es positivo para los receptores hormonales y para el gen *Her2* (Ossa C. A. *et al.*, 2016).

Factores Epigénéticos

La tumorigénesis es un proceso complejo y multifactorial de la transformación de células normales en malignas. Se caracteriza por la acumulación de múltiples fenotipos hereditarios específicos de cáncer provocados por eventos mutacionales o no mutacionales, es decir, regulados por otros mecanismos. La acumulación de pruebas sugiere que la exposición ambiental a sustancias naturales, agentes químicos y físicos, tienen un papel crucial en el cáncer humano. En un sentido amplio, la carcinogénesis puede ser inducida a través de mecanismos ya sea genotóxicos o no genotóxicos, sin embargo, ambos causan importantes cambios epigenéticos; estos cambios son alteraciones en la expresión génica, independientemente de los cambios en la secuencia de ADN. Muchas modificaciones epigenéticas, tienen notorios efectos en la expresión génica (Tume-Farfán 2014).

Un ejemplo de alteraciones epigenéticas inducidas por agentes carcinógenos químicos, son el arsénico, el 1,3-butadieno, agentes farmacéuticos y biológicos (Pogribny & Rusyn 2013).

Las modificaciones epigenéticas, por ciertos mecanismos, se cree que desaparecen con cada nueva generación, durante la gametogénesis y durante el proceso de desarrollo. Sin embargo, un informe de 2013 sugiere que los cambios epigenéticos pueden mantenerse hasta 4 generaciones posteriores (Waldmann & Schneider 2013).

- a) **Modificación de las histonas.** Las modificaciones de las histonas son uno de los principales mecanismos epigenéticos que regulan la expresión de genes y cuando están desequilibrados conducen a cáncer. Ya no son consideradas como proteínas simples que proporcionan apoyo a la estructura del ADN, ya que están sujetas a cambios postraduccionales incluyendo acetilación, metilación, fosforilación,

ubiquitinación. Entre estas modificaciones, el estado de metilación y acetilación de residuos de lisina o arginina específicos, desempeñan un papel crucial en la regulación de la expresión génica (Chen *et al.*, 2010).

- b) Metilación del ADN.** La metilación del ADN en las islas CpG silencia la expresión génica al interferir con la maquinaria transcripcional. Este tipo de modificación interfiere en la progresión del ciclo celular y la diferenciación celular, ya que los reguladores del ciclo celular, tales como *p16*, *p21*, *p27*, y *p53*, son silenciados por la metilación en muchos cánceres (Waldmann & Schneider 2013). La DNMT1 (ADN metiltransferasa) se ha caracterizado como la metiltransferasa que mantiene la metilación del ADN entre divisiones celulares, siendo altamente expresada en células de cáncer. La metilación del ADN puede contribuir al desarrollo de la resistencia endocrino adquirida, ya que la ablación hormonal es el tratamiento de elección para los tumores de mama sensibles a las hormonas, pero hasta el 40% de los pacientes inevitablemente recaen, y estos tumores refractarios de la hormona a menudo tienen un mal pronóstico (Trimarchi *et al.*, 2011). La metilación reversible de citosinas puede ser mediada con precisión por diversos métodos moleculares y patrones de metilación del ADN, ya que están vinculados a importantes vías tumorigénicas. Los cambios en la metilación clínicamente relevantes son conocidos en cánceres humanos comunes tales como de cuello uterino, próstata, mama, colon, vejiga, estómago y pulmón. La metilación diferencial puede tener un papel central en el desarrollo y el resultado de la mayoría de los tumores malignos humanos (Lorincz 2014).
- c) Hipermetilación del ADN.** En el cáncer hay un número de genes con hipermetilación aberrante que se relacionan con la recurrencia de la enfermedad. Este tipo de modificación inactiva los genes relacionados con el control del ciclo celular, apoptosis y la reparación del ADN. Existen muchos intentos de empleo de inhibidores de la metilación como agentes contra esta patología, y las anomalías epigenéticas útiles como biomarcadores de la sensibilidad a los fármacos contra el cáncer, para identificar las características biológicas de las células tumorales y así determinar las mejores opciones de tratamiento basadas en la hipermetilación. Por ejemplo, la hipermetilación aberrante del gen *CHFR* se correlaciona con la sensibilidad celular a

los inhibidores de microtúbulos, esto puede ser útil en el tratamiento de cáncer endometrial tipo 1 (Muraki Y. *et al.*, 2009)

Gen *KiSS-1*

El gen *KiSS-1* se encuentra localizado en el cromosoma humano 1q32 y tiene cuatro exones, los dos primeros no se traducen (Skorupskaite *et al.*, 2014). El gen *KiSS-1* codifica el precursor pre-pro-kisspeptina, un péptido que comprende 145 aminoácidos que mediante un proceso proteolítico diferencial origina un conjunto de productos peptídicos, denominados Kp (Kisspeptina). Originalmente descubierto en 1996, se encontró que se sobre expresaba en células del melanoma que presentan baja actividad metastásica (Lee *et al.*, 1996). Las letras ‘SS’ indican ‘secuencia supresora’ y ‘Ki’ fue agregado como prefijo, dado que la molécula fue descubierta en Hershey, Pensilvania, cuna del famoso chocolate Kisses. Este gen tiene la capacidad de suprimir la metástasis de melanoma y cáncer colorrectal sin afectar la tumorigenicidad. La proteína codificada puede inhibir la quimiotaxis e invasión y por lo tanto atenuar la metástasis en melanomas malignos (Ji *et al.*, 2013) (Figura 4).

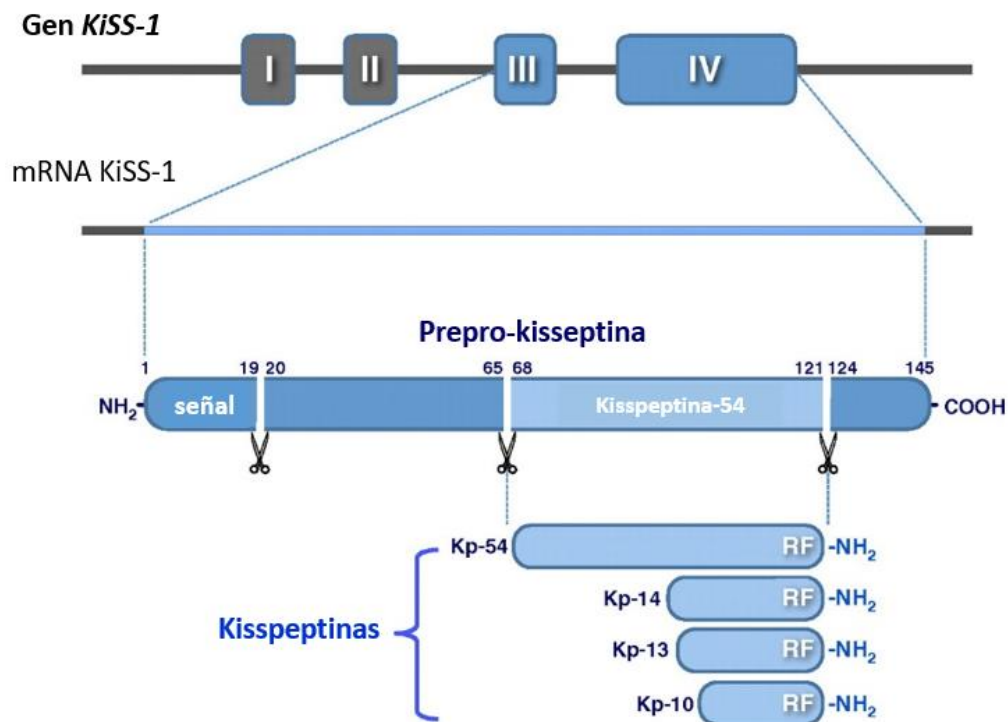


Figura 4 | Formas estructurales de Kps humanas. Diferentes kisspeptinas son generadas por escisión proteolítica de un precursor común: prepro kisspeptina, contiene 145 aminoácidos, con un péptido señal de 19 aminoácidos y una región central de 54 aminoácidos (Kp-54), la última región corresponde al motivo RF-amida (Obtenido y modificado de Pinilla L, *et al.*, 2012)

Kisspeptinas

Las kisspeptinas (Kp) son una familia de neuropéptidos codificados por el gen *KiSS-1*, el cual inicialmente produce un péptido precursor de 145 aminoácidos (prepro kisspeptina), que mediante proteólisis da lugar a diferentes fragmentos de diferentes longitudes; el principal fragmento es la kisspeptina-54 (Kp-54) o metastina, es el más abundante en la circulación y recibe ese nombre debido a su participación en tumores (West A. *et al.*, 1998; Ohtaki T. *et al.*, 2001). Dichos fragmentos se pueden escindir en péptidos de menor tamaño, kisspeptina-14 (Kp-14), kisspeptina-13 (Kp-13) y kisspeptina-10 (Kp-10). Estos fragmentos comparten 10 aminoácidos de la región C-terminal (motivo RF-amida), que presentan un motivo característico Arg-Phe-NH₂, el cual es suficiente para activar completamente al receptor KiSS-1R (Tena-Sempere M. 2006; Roa J. *et al.*, 2011; Clarke H. *et al.*, 2015)

Son conocidas por ser un elemento crítico en la iniciación de la pubertad y la ovulación, también catalogadas como supresores de la metástasis tumoral por sus conocidas actividades anti metastáticas en varias neoplasias malignas.

Se sugiere la participación del sistema KiSS-1/KiSS-1R en la represión de la invasión del trofoblasto en la pared uterina, un proceso de importancia crucial para el desarrollo normal del feto y la placenta (Hiden U. *et al.*, 2007) mecánicamente, la invasión del trofoblasto es similar a la invasión de células tumorales. Reportes clínicos de una variedad de tipos de tumores generalmente apoyan la correlación positiva entre la expresión de KiSS-1, y la supervivencia, baja probabilidad de metástasis y otros fenotipos asociados a la progresión (Hurst D. R. & Welch D. R. 2011).

Receptor acoplado a proteína G 54

El receptor acoplado a proteína G 54, ahora llamado KiSS-1R, fue descubierto en el cerebro de rata en 1999 y se definió como un receptor huérfano, posteriormente fue descrito en el humano y, nombrado AXOR12 o hOT7T175 (Colledge W. H. 2008). Este receptor posee siete dominios transmembranales y presenta cierta similitud a receptores de galanina. Hasta el año 2001 se logró vincular KiSS-1 como ligando endógeno a dicho receptor (Kotani M. *et al.*, 2001; Rhie Y. J. 2013).

En humanos, el receptor KiSS-1R se encuentra mayormente expresado en la pituitaria, páncreas y placenta, con una menor expresión en leucocitos periféricos, músculo liso de algunos vasos sanguíneos, testículos, bazo, timo, glándulas adrenales y nódulos linfáticos (Funes S. *et al.*, 2003; Mead E. J. *et al.*, 2007; Muir A. I. *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001). En el cerebro adulto humano, se encuentra expresado en el giro frontal superior, putamen, núcleo caudado, giro cingulado, núcleo accumbens, hipocampo, protuberancia de la médula, amígdala, así como en hipotálamo (Kotani M. *et al.*, 2001; Lee J. H. *et al.*, 1999; Muir A. I. *et al.*, 2001).

Vía de señalización

El acoplamiento de kisspeptina a su receptor KiSS-1R desencadena una diversidad de cascadas de señalización. Cuando se une al receptor se activa una proteína G ($G_{q/11}$), dependiente de GTP, la unión activa dicha proteína causando que esta escinda sus tres subunidades. Se separa por un lado la subunidad α y por otro la β y γ . La subunidad alfa se desplaza por la bicapa lipídica hasta activar la fosfolipasa C (PLC), al activarla estimula la transformación de difosfato de fosfatidilinositol (PIP_2) en inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG). La presencia de IP_3 produce un aumento en los niveles intracelulares de Ca^{2+} , favoreciendo la salida de Ca^{2+} desde los depósitos celulares (desde el RE hacia el citoplasma fundamentalmente). Como consecuencia del aumento de Ca^{2+} , se bloquean los canales de K^+ de la membrana, impidiendo su salida al citoplasma. Con esto se aumenta la positividad en la cara interna de la membrana, lo cual produce una despolarización y se genera un potencial de acción (Muir A. I. *et al.*, 2001; Pinilla L. *et al.*, 2012; Clarke H. *et al.*, 2015). Con dicho potencial excitatorio se genera un impulso nervioso que activa las neuronas GnRH e incrementa su síntesis y la posterior modulación de la hormona luteinizante (LH) y la liberación de la hormona folículo-estimulante (FSH). Además, el aumento de los niveles de Ca^{2+} aunado a la presencia de DAG, producen la activación de la proteína cinasa C (PKC) que induce la fosforilación de las cinasas activadas por mitógenos, (MAPKs), tales como ERK1/2 y p38. Por otra parte, la activación de KiSS-1R recluta arrestina- $\beta 1$ y $\beta 2$, que también modulan el receptor de señalización, solo que de manera contraria. Mientras que la primera, arrestina ($\beta 1$) disminuye la fosforilación de ERK mediada por KiSS-1R, arrestina-

$\beta 2$ la aumenta. La activación del receptor también se ha demostrado que desencadena la formación de ácido araquidónico (Pinilla L. *et al.*, 2012; Teng E. L. 2015) (Figura 5).

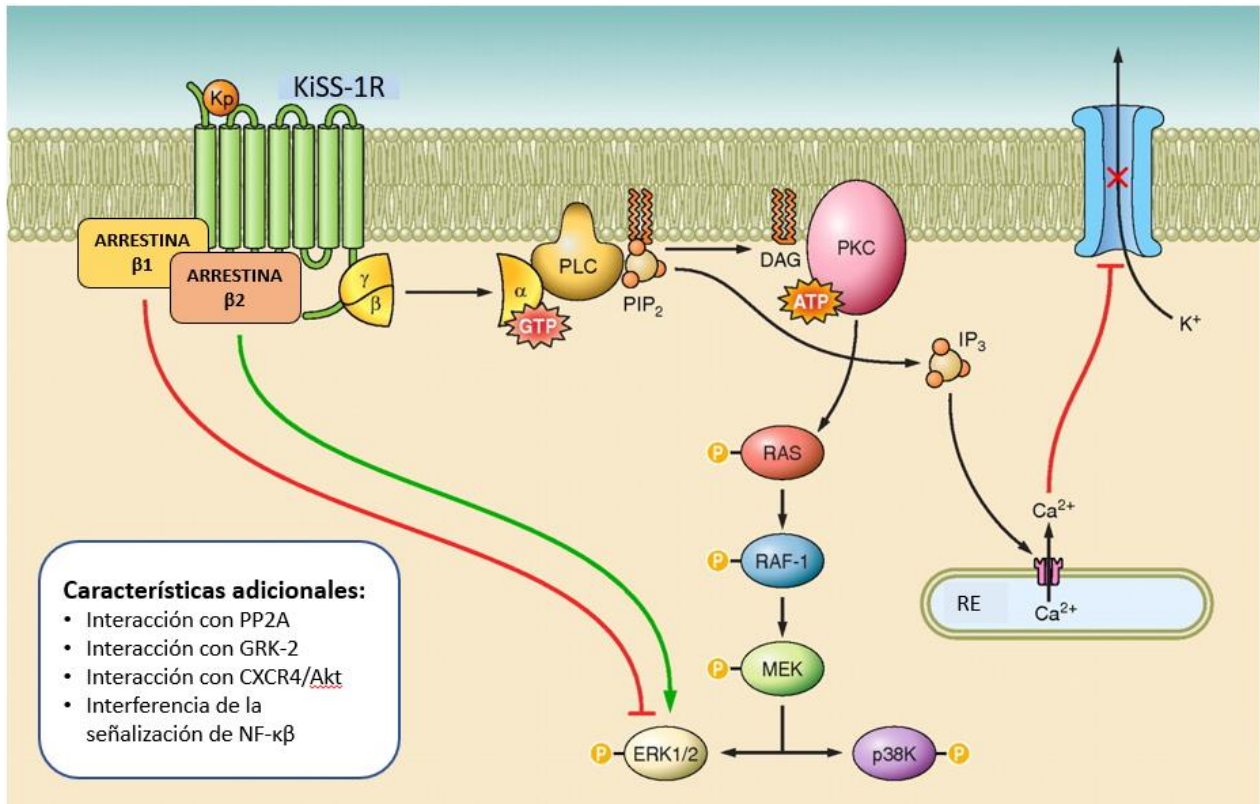


Figura 5 | Señalización de GPR54. Representación esquemática de las principales vías de señalización reclutadas tras la activación de KiSS-1R. (Obtenido y modificado de Pinilla L. *et al.*, 2012)

RELACION ENTRE LAS KISSPEPTINAS Y LOS DIFERENTES TIPOS DE CANCER

Hasta la fecha, han sido descritos más de 100 tipos de cáncer, los cuales, reciben por lo general el nombre de los órganos o tejidos en donde se originaron. De igual manera, el cáncer puede también describirse según el tipo de célula que la forma, como célula epitelial o célula escamosa (NCI, 2018). Siendo el más común el cáncer de tipo epitelial, aproximadamente el 90% de los casos, encontrándose una mayor incidencia y mortalidad en cáncer de pulmón, hígado, estómago, colon, próstata y glándula mamaria (GLOBOCAN, 2020).

1. Cáncer de mama

El cáncer de mama, es el tipo más común en las mujeres adultas a nivel mundial. Se ha convertido en uno de los principales problemas de salud pública, que puede provocar además de incapacidad de la persona, su muerte (Instituto Nacional de Salud Pública, 2019).

GLOBOCAN informó que, en el año 2020, se detectaron un total de 2.26 millones de nuevos casos diagnosticados de cáncer de mama, representando el 11.7% de todos los tipos de cáncer. Es el más frecuente en mujeres de regiones desarrolladas, así como subdesarrolladas. El mayor número de decesos se registra en regiones de bajos recursos, ya que generalmente el diagnóstico se realiza en fases avanzadas de la enfermedad, debido a la falta de acceso a información oportuna, servicios de salud y a la poca sensibilización para la detección precoz (GLOBOCAN, 2020).

La evidencia que se plantea a continuación es muy controversial. Varios estudios sugieren que el ARNm de KiSS-1 es significativamente bajo en células de cáncer de mama metastásico de alto grado. Se encontró que la expresión de KiSS-1 es mayor en las células de cáncer de mama primario en comparación con las metástasis tumorales. Se ha observado una pérdida total de KiSS-1 en algunos casos de metástasis de cáncer de mama, como en el carcinoma de mama con ganglios linfáticos positivos en estadio 1 o 2 (Ji K. *et al.*, 2013; Masui T. *et al.*, 2004). Además, se ha sugerido que KiSS-1 también podría impedir la proliferación en tejidos cancerosos (Mooez S. *et al.*, 2011). Estas evidencias concuerdan con la idea de que KiSS-1 es una proteína anti metastásica donde su expresión disminuida o pérdida total, puede contribuir con la formación de metástasis.

Las acciones anti metastásicas de KiSS-1 se logran mediante el bloqueo de ciertos oncogenes como WASF3 (Cvetković D. *et al.*, 2013). Teng y colaboradores, en 2011 observaron que, los niveles de WASF3 se encuentran elevados en los carcinomas de mama más agresivos, otro descubrimiento importante, fue la observación que al silenciar el oncogén WASF3 en células de cáncer de mama, se volvía evidente la regulación positiva del ARNm de KiSS-1 (Teng Y. *et al.*, 2011). Además, con los resultados de ese estudio y otro realizado en 2014 por el mismo grupo de investigación, encontraron que el silenciamiento de WASF3 en células cancerígenas está asociado con la pérdida de la capacidad para multiplicarse e invadir otros tejidos (Teng Y. *et al.*, 2014).

Xie y colaboradores, en 2012, reportaron que una regulación positiva de WASF3 provoca una caída de los niveles de KiSS-1 (Xie F. *et al.*, 2012). Como consecuencia, se cree que la pérdida de KiSS-1 por la sobreexpresión de WASF3 en células de cáncer de mama podría estar asociado con el crecimiento tumoral y mal pronóstico para el paciente (Ji K. *et al.*, 2013; Ulasov I. V. *et al.*, 2012; Xie F. *et al.*, 2012).

El papel anti metastásico de KiSS-1 en el cáncer de mama es cuestionable, ya que algunas líneas celulares, aunque presentan altos niveles de expresión de KiSS-1, son altamente metastásicas (Cvetković D. *et al.*, 2013; Zajac M. *et al.*, 2011; Martin T. A. *et al.*, 2005).

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es altamente metastásico, este tipo de tumor se caracteriza por carecer del receptor a estrógeno alfa ($ER\alpha$), receptor a progesterona (PR) y receptor 2 del factor de crecimiento humano (ErbB2), además de exhibir un metabolismo incrementado de glutamina; un requerimiento clave para el crecimiento tumoral. El receptor KiSS-1R se encuentra altamente expresado en pacientes con tumores TNBC comparados con tejidos normales. La señalización de KiSS-1R promueve resistencia a fármacos incrementando la expresión de BCRP e induciendo la actividad y transcripción del receptor tirosina cinasa AXL (Blake A. *et al.*, 2017).

En células altamente proliferativas, la glutamina puede proveer la energía por medio del ciclo de los ácidos tricarbóxicos (TCA), así como de nitrógeno para la biosíntesis de nucleótidos. La glutamina es convertida en glutamato por efecto de la glutaminasa, enzima participante en la glutaminólisis, aunado a esto, ha sido reportado que KiSS-1R regula la expresión del factor de transcripción c-Myc y la glutaminasa (Gao P. *et al.*, 2009), necesarios para el catabolismo de glutamina y, por lo tanto, promoviendo el crecimiento tumoral, ya que los tumores TNBC son dependientes de glutamina exógena para sobrevivir y crecer, además, se han encontrado altos niveles de glutamato en tumores TNBC (Timmerman, L.A. 2013).

Cuando las células mamarias pierden el receptor a estrógeno alfa ($ER\alpha$), la señalización de KiSS-1R promueve la Transición Epitelio-Mesénquima estimulando la invasión tumoral. Se ha comprobado que KiSS-1R también induce la invasión de las células TNBC activando el receptor del factor de crecimiento epidérmico por medio de la vía MMP-9, sin embargo, no logra la activación de HER2 (Guzman S. *et al.*, 2018; Goertzen C. G. *et al.*, 2016; Cvetković D. *et al.*, 2013).

Se ha demostrado que ER α regula de manera negativa los niveles de KiSS-1 y KiSS-1R, así como la invasión inducida por KiSS-1R. Se considera que, por esto, en TNBC (y otros cánceres negativos a ER α) se podría explicar el cambio de KiSS-1R de supresor de metástasis a promotor. Por otra parte, ha sido reportada la sobreexpresión del complejo KiSS-1/KiSS-1R en pacientes TNBC, cuya señalización es capaz de inducir resistencia a fármacos (Dragan M. *et al.*, 2020).

En el estudio realizado por Dragan y colaboradores, en 2020, se reveló que la vía de señalización de KiSS-1R juega un papel central y multifuncional en el cáncer de mama negativo a ER α , descubriendo que la señalización de este receptor, metabólicamente, reprograma las células cancerígenas para depender de glutamina en la tumorigénesis; específicamente, KiSS-1R regula la expresión del factor de transcripción c-Myc y la glutaminasa, necesarios para el catabolismo de la glutamina y, por lo tanto, conduce a procesos como la síntesis de nucleótidos, necesario para el crecimiento tumoral (Dragan M. *et al.*, 2020).

2. Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) fue la segunda causa de mortalidad referente a cáncer en el año 2020 tanto para hombres como para mujeres. De acuerdo con el registro GLOBOCAN, en 2020 la incidencia estimada fue de 1.93 millones de nuevos casos, con un total de 935 mil muertes causadas por este tipo de cáncer, lo que representa el 9.4% de muertes oncológicas. En el continente americano, la incidencia estimada es de 246 000 nuevos casos, con una mortalidad aproximada de 112 000 personas cada año. En México, el CCR ocupa el tercer lugar en incidencia entre las enfermedades oncológicas en ambos sexos, y el quinto lugar en mortalidad en hombres y el sexto en mujeres. Se puede dividir en hereditario y esporádico. En la mayor parte de los casos presenta un desarrollo progresivo a partir de una lesión premaligna (adenomatosa), que después de un periodo de alrededor de 3-5 años da origen a una lesión maligna, lo que se conoce como ‘secuencia adenoma-carcinoma’ (Gálvez-Ríos *et al.*, 2020).

La tasa de supervivencia a 5 años de personas con estadio localizado de cáncer colorrectal es del 90%. Alrededor del 39% de los pacientes reciben el diagnóstico en esta etapa inicial. Si el cáncer se ha diseminado hacia los tejidos o los órganos circundantes o hacia los ganglios linfáticos regionales, la tasa de supervivencia a 5 años es del 71%. Si el cáncer se ha diseminado a partes distantes del cuerpo, la tasa se reduce al 14%. Sin embargo, en los pacientes que tienen solo 1 tumor o algunos tumores que se han diseminado desde el colon o el recto hacia los pulmones o el hígado, la extirpación quirúrgica de estos tumores puede eliminar el cáncer, con lo cual mejora considerablemente la tasa de supervivencia a 5 años para estos pacientes. Por lo tanto, la detección temprana mejora los resultados, sin embargo, es evidente que el diagnóstico colorrectal no se practica a tiempo y las metástasis a distancia contribuyen a un mal pronóstico (American Cancer Society 2020).

KiSS-1 inhibe la invasión reduciendo la expresión de MMP-9 en células de cáncer colorrectal HCT-115 y HCT-119. Consecuentemente, los niveles de expresión de KiSS-1 se correlacionan negativamente con la expresión de MMP-9, esta relación también se ha revelado en otros tipos de cáncer. KiSS-1 puede reducir la expresión de MMP-9 inhibiendo la fosforilación de AKT en células HTC-119 o de ERK en células HTC-115. Además, KiSS-1 inhibe la invasión de células LoVo inhibiendo la activación de PKR (Kim J. N. *et al.*, 2018).

Kim y colaboradores, en 2018, encontraron que la presencia de KiSS-1 reduce la capacidad migratoria e invasora de diferentes líneas celulares provenientes de cáncer colorrectal (CACO-2, COLO-205, HTC-116, HT-29, LoVo, LS174T, SNU0283, SNU1033, SW-620). Como se ha observado que PKR se encuentra involucrado en la inhibición de la invasión por KiSS-1, examinaron la fosforilación de PKR mediada por KiSS-1 en células HTC-116 y LoVo, observando un incremento en la fosforilación de PKR en ambas líneas empleadas, con un efecto contrario obtenido por el silenciamiento de KiSS-1R mediante siRNAs. Para confirmar que la señalización de KiSS-1 requiere de la fosforilación de PKR, las células HTC-116 y LoVo se pre trataron con el inhibidor de PKR C16 por 5 minutos y las incubaron con KiSS-1 durante 12 horas. Este ensayo demostró que la inhibición de PKR resultó en el rescate de la invasión bloqueada por KiSS-1. Con estos datos indicaron que KiSS-1 involucra a PKR en la inhibición de la invasión (Kim J. N. *et al.*, 2018).

Para analizar si KiSS-1 inhibe la fosforilación de ERK y AKT vía PKR, las células HTC-116 fueron pre tratadas con el inhibidor de PKR C16, con esto bloquearon la fosforilación de PKR mediada por KiSS-1. No afectó la fosforilación de AKT, pero se incrementó la fosforilación de ERK, mientras que KiSS-1 por si sola incrementó la fosforilación de AKT y PKR, pero no la de ERK, y se C16 incrementó los niveles fosforilados de AKT y ERK, sin embargo, tuvo el efecto contrario en PKR. Estos datos indican que la activación de PKR por KiSS-1 puede inhibir la fosforilación de AKT y ERK (Kim J. N. *et al.*, 2018).

Se sabe que la proteína cinasa R, inhibe la fosforilación de AKT por medio de la activación de PP2A, teniendo el mismo efecto en ERK, además, la actividad de PP2A está inversamente correlacionada con la progresión del cáncer colorrectal. Por lo tanto, Kim colaboradores, examinaron el papel de PP2A empleando su inhibidor LB-100. Este proceso no afectó la fosforilación de PKR mediada por KiSS-1, mientras que aumentó la fosforilación de AKT y ERK, además, se rescató el efecto de KiSS-1 sobre la invasión en ambas líneas celulares empleadas (HTC-116 y LoVo). Cuando a las células HTC-116 las pretrataron con la inhibición de PKR o PP2A, y después se les dio tratamiento con KiSS-1, la inhibición de PKR bloqueó la fosforilación de PP2A, mientras que la inhibición de PP2A no afectó la fosforilación de PKR. Con estos resultados, los investigadores indicaron que KiSS-1 reprime la invasión de células cancerígenas colorrectales por medio de la vía de señalización PKR-PP2A (Kim J. N. *et al.*, 2018).

En cuanto a datos clínicos, los niveles de expresión de KiSS-1 fueron más bajos en tejidos cancerosos colorrectales que en los tejidos normales adyacentes, y se correlacionaron negativamente con un diagnóstico poco favorable, el cual está respaldado por el estado metilado del promotor de *KiSS-1*. Sin embargo, otros grupos han reportado que los niveles de expresión de KiSS-1 fueron más elevados en tejidos cancerosos colorrectales que en adyacentes normales y, además, los niveles plasmáticos de KiSS-1 también se encontraban elevados (Mousavi A. R. *et al.*, 2017; Matthaiou S. *et al.*, 2018; Wang X. Q. *et al.*, 2019).

El tratamiento con KiSS-1 o su sobreexpresión, inhibe la migración de células de cáncer colorrectal y la invasión bloqueando la expresión de MMP-9, logrado en parte por la inhibición de la fosforilación de AKT o ERK. No obstante, el requerimiento de KiSS-1 en la inhibición de la metástasis mediada por KiSS-1 es controversial, ya que se ha demostrado

que KiSS-1 no requiere de KiSS-1R en metástasis de melanoma (Nash K. T. *et al.*, 2007; Zhu C. *et al.*, 2015; Yang Y. *et al.*, 2016).

Se ha demostrado que KiSS-1 requiere de KiSS-1R para inhibir la invasión en cáncer colorrectal, por medio de la vía de señalización PKR-PP2A. En conjunto, el inhibidor de PKR bloqueó la fosforilación mediada por KiSS-1, pero incrementó los niveles fosforilados de AKT y ERK, de esta manera demostraron que la regulación de KiSS-1 en la vía RhoA-PKR se encuentra río arriba de AKT y ERK. Además, la activación de PKR por KiSS-1 inhibió la fosforilación de AKT y ERK incrementando la actividad de PP2A. A pesar de eso, no está claro como KiSS-1 señala PKR y PP2A vía KiSS-1R. El inhibidor de PP2A no afectó la fosforilación mediada por KiSS-1 de PKR. De esta manera, la señalización de KiSS-1 involucra secuencialmente a KiSS-1-KiSS-1R-RhoA-PKR-PP2A. Por lo tanto, los autores del estudio han sugerido que la señalización de KiSS-1 puede prevenir la malignidad del cáncer colorrectal (Kim J. N. *et al.*, 2018).

3. Cáncer de endometrio

El cáncer del cuerpo uterino es la principal causa de enfermedad maligna ginecológica con más de 42 000 casos diagnosticados al año en los Estados Unidos y la incidencia de esta enfermedad ha aumentado constantemente. La metástasis tumoral implica múltiples pasos para ser llevada a cabo, tales como pérdida de adhesión celular, invasión del estroma, intravasación, diseminación y fijación en sitios distantes. La tasa de metástasis en los ganglios linfáticos en el cáncer de endometrio se acerca al 26% en casos con invasión que se extienden más allá de la mitad del miometrio, mientras que solo el 6% en aquellos casos con invasión extendida a menos de la mitad del grosor del miometrio (Kang H. S. *et al.*, 2011).

Aproximadamente 20 proteínas supresoras de metástasis se han reportado previamente; NM23, KAI1, RHOGD12 y KiSS-1 previenen el sobrecrecimiento de grupos celulares aislados. La unión de KiSS-1 induce una serie de señales intracelulares como la activación de ERK y Rho o la supresión de AKT, dando como resultado la inhibición de la quimiotaxis e invasión de células tumorales (Makri A. *et al.*, 2008; Navenot J. M. *et al.*, 2009; Kim J. N. *et al.*, 2018).

Sin embargo, queda por aclarar el papel de KiSS-1/KiSS-1R en el cáncer de endometrio en un grupo mayor, que sea un número de casos suficiente para determinar su importancia. En un estudio realizado por Kang y colaboradores en 2011, demostraron la significancia clínica y regulación epigenética de la expresión de KiSS-1R en cáncer endometrial. En dicho estudio analizaron datos de microarreglos de 146 cánceres de endometrio para la expresión de genes supresores de metástasis, lo que dividió los cánceres en dos grupos; uno enriquecido en cánceres de alto grado, determinado por el agrupamiento jerárquico basado en la expresión de 7 genes supresores de metástasis. Evaluaron la expresión de KiSS-1/KiSS-1R en 92 muestras clínicas mediante inmunohistoquímica; encontrando que la expresión de KiSS-1R era menor en adenocarcinomas endometrioides de grado 3 comparados con muestras de grado 1 (Kang S. H. *et al.*, 2018).

Análisis de microarreglos de 57 cánceres han revelado que la baja expresión de mRNA de KiSS-1R, se observa con mayor frecuencia en serosa y adenocarcinoma de células claras, sugiriendo que la expresión de KiSS-1R se encuentra suprimida en carcinomas endometriales de alto grado (Salvesen H. B. *et al.*, 2009).

Además, la pérdida de expresión inmunohistoquímica de KiSS-1R se asoció significativamente con invasión en el espacio linfovascular y capa profunda (miometrio), factores bien conocidos por advertir un mal pronóstico y que son asociados con metástasis distal. Adicionalmente, examinaron la relevancia del complejo KiSS-1/KiSS-1R en la migración e invasión de células cancerígenas endometriales *in vitro*. Para el estudio de Kang y colaboradores, en 2011, utilizaron Kp-10 (kisspeptina-10), un péptido corto de 10 aminoácidos, el cual es procesado proteolíticamente de Kp-54 (kisspeptina-54), ya que ha sido reportado que es 10 veces más activa que Kp-54 y se considera como un candidato para uso clínico (Kang H. S. *et al.*, 2011; Tomita K. *et al.*, 2007).

La migración de células endometriales de la línea celular Ishikawa KiSS-1R positivas, fue significativamente inhibida por Kp-10 en el ensayo de cierre de herida, mientras que la proliferación no se vio afectada. Estos resultados se confirmaron mediante capturas del paso del tiempo, en las cuales la migración activa de las células Ishikawa fue suprimida por el tratamiento con Kp-10, mientras que la división celular parecía similar a las células control. La invasión celular también se vio inhibida por el tratamiento con Kp-10, tal como se evaluó

utilizando el ensayo de cámara de Boyden, en contraste, los efectos inhibitorios del tratamiento con Kp-10 en la migración e invasión no se observaron en células HEC1A KiSS-1R negativas. El bloqueo de KiSS-1R mediante siRNA dio lugar a la falta de respuesta de células Ishikawa tratadas con Kp-10. Concluyendo que el efecto de Kp-10 en cáncer de endometrio depende de su receptor KiSS-1R. Para evaluar si el tratamiento con Kp-10 altera los patrones de expresión genética, se llevaron a cabo análisis de microarreglos de la expresión de genes en células Ishikawa, que fueron tratadas con Kp-10 y que no tuvieron tratamiento. Al comparar la expresión génica de subclonas altamente metastásicas con su línea parental, se generó la puntuación de probabilidad metastásica mediante el método binario Bayesiano (Bild A. H. *et al.*, 2006). La probabilidad metastásica calculada se redujo significativamente después del tratamiento con Kp-10, sugiriendo que el péptido convirtió a las células Ishikawa en un fenotipo menos metastásico. Observando lo contrario cuando se suprimió KiSS-1R mediante siRNA, de nuevo indicando que el efecto de KiSS-1 es dependiente de su receptor KiSS-1R (Kang H. S. *et al.*, 2011).

Los eventos epigenéticos contribuyen a la iniciación y progresión del cáncer, la adquisición de metilación en genes promotores en cáncer, frecuentemente se asocia con represión transcripcional. En cánceres endometriales, la inactivación de promotores por hipermetilación es frecuente en genes como *PTEN*, *p16* y *RASSF1A* (Pallares J. *et al.*, 2008).

En el estudio realizado por Kang y colaboradores en 2011, se demostró que la metilación del promotor se presentó en 7 líneas celulares endometriales y 5 de estas mostraron metilación total, mientras que este evento epigenético no se observó en células hEM derivadas de endometrio sano. Esto demuestra que la expresión de KiSS-1R se encuentra epigenéticamente regulada en este tipo de cáncer. Considerando que los cánceres endometriales KiSS-1R negativos tienen un mal pronóstico y un fenotipo altamente metastásico, combinado con el hecho de que Kp-10 no puede inhibir la migración e invasión de células endometriales cancerígenas que carecen de KiSS-1R, la restauración de este receptor es crucial para brindar una mayor eficacia en el tratamiento con Kp-10. En este contexto, se trató de restaurar la expresión de KiSS-1R en 5 líneas celulares endometriales, al aliviar la hipermetilación del promotor de *KiSS-1R* utilizando 5-aza-DC; un agente desmetilante. Después del tratamiento con 5-aza-DC, la invasión evaluada en Matrigel de las

líneas células KiSS-1R negativas HEC1A y AN3CA, fue significativamente inhibida con Kp-10. De esta manera, el grupo de investigación concluyó que la restauración de KiSS-1R, mediada epigenéticamente utilizando agentes hipometilantes, podría proporcionar un medio para resensibilizar las células a los efectos de anti metastásicos de Kp-10 en cánceres de endometrio (Kang H. S. *et al.*, 2011).

4. Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es una neoplasia hormono-dependiente de importante heterogeneidad. El comportamiento clínico, la respuesta a tratamientos y la supervivencia varían dependiendo de cada paciente. Más del 95% de los cánceres prostáticos son adenocarcinomas y, las variantes que no lo son, pueden dividirse en dos grupos con base en su origen celular: epitelial y no epitelial. Las variantes epiteliales son más diferenciadas y biológicamente menos agresivas, mientras que las no epiteliales tienen un comportamiento mayormente invasivo (López A. I. *et al.*, 2017).

En 2020, México registró 26 742 nuevos casos y 7 500 fallecimientos por este tumor, de acuerdo con datos de la plataforma GLOBOCAN, de la Organización Mundial de la Salud y, a diferencia de varios países, la mortalidad por cáncer de próstata se ha incrementado en las últimas dos décadas, ya que conforme avanza la edad, la incidencia aumenta en forma significativa (Islas P. *et al.*, 2020). Antes de los 50 años esta enfermedad no es frecuente y rara vez se presenta antes de los 45 años, su prevalencia se incrementa a partir de la quinta década de la vida, con evidencia histológica en 34% de los hombres en esta etapa (Ramos C. *et al.*, 2018).

Las opciones terapéuticas para un cáncer de próstata localizado incluyen cirugía y/o radioterapia. Debido a que el crecimiento del cáncer de próstata está dirigido por hormonas sexuales masculinas denominadas andrógenos, la reducción de los niveles de esta hormona pueden ayudar a retrasar el crecimiento del cáncer. Desafortunadamente, la enfermedad a menudo progresa, como se evidencia más a menudo por el aumento del antígeno prostático específico. Ha sido considerada como una ‘enfermedad silenciosa’, ya que mientras las células se transforman y se incrementan, pueden pasar hasta 10 años sin que se presenten

síntomas. Es común que los síntomas del carcinoma prostático aparezcan en la fase tardía de su evolución y se deben habitualmente a la infiltración local obstructiva, a las metástasis a distancia y a la infección urinaria condicionada por la estasis crónica (Ferrer C. *et al.*, 2012).

Esta enfermedad cobra importancia por dos motivos principalmente: por un lado está su frecuente aparición en todo el mundo, con tendencia a afectar a individuos mayores a 50 años y, por otro lado, la ausencia de síntomas en su fase inicial, que unido al crecimiento lento del tumor, hace que pase inadvertido para el paciente, por lo que su diagnóstico se realiza cuando ya se ha propagado fuera de la glándula, disminuyendo significativamente las posibilidades de una evolución hacia la regresión tumoral, por último, la metástasis es la causa de muerte predominante, más que el crecimiento original del tumor (Baumert H. *et al.*, 2013).

Wang y colaboradores, en 2012 estudiaron la expresión de la proteína KiSS-1 en tejidos prostático benigno y canceroso. Encontrando una sobreexpresión de KiSS-1 en tejidos normales, así como en hiperplasia benigna de próstata. Por el contrario, observaron una expresión disminuida en etapas tempranas del tumor, con una pérdida progresiva en etapas tardías y tumores metastásicos. La pérdida de la expresión de KiSS-1 se correlacionó con estadios clínicos avanzados, así como con la pérdida de KiSS-1R (Wang H. *et al.*, 2012).

En un estudio realizado por Xoxakos y colaboradores, en 2020, se examinó la expresión de KiSS-1, así como la de su receptor KiSS-1R en tejido prostático, evaluado en pacientes que se sometieron a prostatectomía radical para adenocarcinoma de próstata localizado comprobado histológicamente. Los resultados obtenidos documentaron que la expresión de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R se encuentran fuertemente relacionadas de manera positiva. Adicionalmente, abordaron la correlación significativa de la expresión de KiSS-1 y KiSS-1R con el estadio del tumor y la puntuación de Gleason en cáncer de próstata. Dentro de los 186 pacientes que fueron tratados con prostatectomía radical, la mediana (rango intercuartílico) de la expresión de KiSS-1 fue 240% (200-270%) en pacientes con estadio IIa, 210% (106-270%) en estadio IIb, 100% (100-152.5%) en estadio III y 95% (85-100%) en pacientes con estadio IV. Estos resultados indican una expresión significativa de KiSS-1 en pacientes con tumores localizados (estadio \leq IIb), comparado con pacientes en etapas avanzadas (Estadio $>$ III). Además, la expresión del receptor KiSS-1R fue de 205% (12-300%), 210% (120-240%), 105.5% (95-145%) y 90% (80-101%) en pacientes en etapa IIa, IIb, III y IV de cáncer

de próstata, respectivamente. Similar a KiSS-1, la expresión de su receptor es significativamente más alta en pacientes con estadios tumorales más bajos (localizado) que en pacientes con un mayor y más avanzado estadio de la enfermedad (etapa \geq III) (Xoxakos I. *et al.*, 2020).

La escala de Gleason es un sistema de clasificación importante del cáncer de próstata y un factor clave para la determinación del tratamiento. Se ha detectado una relación negativa entre la puntuación de Gleason y la expresión de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R. Los pacientes con cáncer de próstata avanzado con una mayor puntuación Gleason presentaron menores tasas de expresión de KiSS-1 y KiSS-1R (Xoxakos I. *et al.*, 2020).

La función de KiSS-1 como supresor tumoral en cáncer de próstata se ha demostrado en un estudio realizado por Wang y colaboradores, en 2012, quienes detectaron la inhibición de la invasión y migración celular, así como una re sensibilización de las células a la quimioterapia cuando lograron la re expresión de KiSS-1 en células PC-3M, que carecen de KiSS-1 (Wang H. *et al.*, 2012).

Basados en los descubrimientos recién mencionados, podría decirse que se le puede dar un uso clínico muy prometedor a KiSS-1 o agonistas del receptor KiSS-1R, que podrían ser desarrollados en el futuro, dado que la re expresión de KiSS-1 aumenta la sensibilidad a los agentes terapéuticos dirigidos a la proliferación como el platino. Estos últimos resultados son similares con la re expresión de KiSS-1 en carcinoma escamoso de cabeza y cuello, restaurando la quimiosensibilidad a través de la escisión poli (ADP ribosa) polimerasa-1 asociada al factor nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$) (Jiffar T. *et al.*, 2011).

5. Cáncer de tiroides

El carcinoma de tiroides es un cáncer poco frecuente, pero constituye la neoplasia maligna más común del sistema endocrino. De acuerdo a las características clínicas, el cáncer de tiroides se puede clasificar como cáncer papilar de tiroides (PTC, 80%), cáncer folicular de tiroides (FTC, 10-15%), cáncer de tiroides pobremente diferenciado (PDTC, 2-3%), cáncer de tiroides anaplásico (ATC, 12-2%) y carcinoma de células escamosas de tiroides (SCC, 1-2%) (Mallia N. *et al.*, 2015).

Los tumores diferenciados (papilar o folicular) son sumamente tratables y generalmente curables. Afecta con mayor frecuencia a las mujeres y suelen presentarse entre las personas de 25 a 65 años como un nódulo frío, con una incidencia global del 12-15% pero es más alta en las personas menores de 40 años, en quienes se observan calcificaciones mediante ecografía preoperatoria. La incidencia de este tipo de cáncer ha aumentado en todo el mundo debido a la alta prevalencia de obesidad e insulinoresistencia en la población, a la mayor exposición a radiaciones (estudios por imágenes) y a mayor presencia de otros carcinógenos ambientales. Por otra parte, el carcinoma papilar es la forma más frecuente de carcinoma tiroideo. Este puede ocurrir a cualquier edad y es responsable de la mayoría de los carcinomas tiroideos asociados a radiaciones ionizantes previas. Suelen presentarse como lesiones solitarias o multifocales dentro del tiroides, muchas veces bien circunscriptos, y a menudo encapsulados; en otros casos, infiltran el parénquima adyacente con los márgenes bien definidos. El carcinoma folicular es el siguiente en orden de frecuencia, con una incidencia máxima en la edad media de la vida, sobre todo en las áreas de deficiencia dietética de yodo, lo cual sugiere que el bocio nodular puede predisponer al desarrollo de neoplasias (Grant-Tate M. *et al.*, 2019; Ríos A. *et al.*, 2015; Udelsman R. *et al.*, 2014).

Los pacientes con carcinoma diferenciado de tiroides habitualmente tienen un buen pronóstico, con una elevada supervivencia a largo plazo, en comparación con otros tipos de tumores, para pacientes con neoplasias tiroideas se cuenta con el tratamiento quirúrgico, el radioyodo y la sustitución de por vida con hormonas tiroideas (Yan *et al.*, 2018).

La vía de señalización proteasoma-ubiquitina (UPP) consiste en ubiquitina (Ub), enzima activadora de ubiquitina (E1), enzimas de unión a ubiquitina (E2s), ligasas ubiquitina-proteína (E3s), proteasoma 26s, enzimas de disociación de ubiquitina (DUB) y juega un papel crítico en la regulación de la proliferación celular y apoptosis por degradación de proteínas (Aberle H. *et al.*, 2014).

Varios estudios han demostrado que la activación anormal de UPP conduce a la cancerización de células normales a través de la degradación de proteínas supresoras de tumores (. El factor de ubiquitinación regulatorio de las proteínas Smad 1 (Smurf1) es una ligasa ubiquitina-proteína E3, la cual participa en el reclutamiento de ubiquitinas-cargadas con E2 y reconoce sustratos específicos (Datta K. *et al.*, 2016; Lee. H. L. *et al.*, 2013; Ishii Y. *et al.*, 2007).

Kwon y colaboradores, en 2013, probaron que Smurf1 desempeñó un papel importante en la invasión y migración celular de cáncer de mama inducida por el factor de crecimiento epidérmico (EGF) (Kwon A. *et al.*, 2013). Ke y colaboradores, en 2017, señalaron que Smurf1 promovió el crecimiento y metástasis de carcinoma renal de células claras por la activación de las vías (ERK/RSK1) y (PI3K/AKT/mTOR). Sin embargo, los efectos de Smurf1 sobre la proliferación y metástasis de células de cáncer de tiroides permanecían sin investigarse (Ke M. *et al.*, 2017).

En el año 2018, Yan y colaboradores, investigaron el papel de Smurf1 en células de cáncer de tiroides, reportaron que Smurf1 se encontraba sobreexpresada en tejidos tumorales de tiroides y células de cáncer de tiroides, en comparación con tejidos normales adyacentes, además, los niveles de proteína y mRNA de Smurf1 en líneas celulares SW579, TPC-1, K1 y BCPAP, fueron más altos que en líneas normales de tiroides HT-ori3 y Nthy-ori3. Sugiriendo que la sobreexpresión de Smurf1 podría estar involucrada en la tumorigénesis de las células normales de tiroides. Para detectar los efectos de Smurf1 en la viabilidad, migración, invasión, proliferación y apoptosis, transfectaron las líneas celulares SW579 y TPC-1 con los plásmidos pc-Smurf1 y sh-Smurf1, con lo cual, pc-Smurf1 aumentó los niveles de proteínas y mRNA de Smurf1, obteniendo el efecto contrario con sh-Smurf1. Observaron efectos similares con respecto a la viabilidad. La transfección con pc-Smurf1 incrementó significativamente la migración e invasión de ambas líneas celulares empleadas, teniendo efectos contrarios sh-Smurf1. Además, los números de colonias formadas con la transfección de pc-Smurf1 se incrementaron, mientras que disminuyeron con sh-Smurf1 (Yan C. *et al.*, 2018).

Debido a la transfección de sh-Smurf1, detectaron altos niveles de Bax, caspasa-3 escindida y caspasa-9 escindida en células SW579 y TPC-1, reportando un incremento en la tasa de células apoptóticas, antes inhibida por la sobreexpresión de Smurf1. Por otra parte, con la transfección de pc-Smurf1 en líneas celulares K1 y BCPAP, la viabilidad, migración e invasión se aumentó de manera significativa, aunado a esto, no observaron efectos significativos con respecto a la apoptosis celular, comprobado por no detectar cambios en los niveles de expresión de Bax, Caspasa-3 escindida y caspasa-9 escindida. El grupo de investigación también evaluó los niveles de expresión de KiSS-1 en las líneas SW579 y TPC-

1 después de la transfección con pc-Smurf1 y sh-Smurf1, donde los niveles de mRNA no sufrieron cambios importantes, mientras que los niveles de proteína de KiSS-1 en SW579 se redujeron con pc-Smurf1, pero fueron aumentados por la transfección con sh-Smurf1. Gracias a estos resultados se sugiere que Smurf1 regula negativamente los niveles de proteína de KiSS-1 (Yan C. *et al.*, 2018).

Para comprobar la ubiquitinación de KiSS-1 promovida por Smurf1 en células SW579 y TPC-1, se trataron a las células con MG132, un inhibidor de proteasomas, el cual incrementó los niveles de KiSS-1-FLAG, sugiriendo que el proteasoma regulaba la ubiquitinación de KiSS-1. La sobreexpresión de Smurf1-FLAG disminuyó los niveles de proteína de KiSS-1 de manera dosis dependiente. Además, se incrementaron los niveles de ubiquitinación de KiSS-1, con el mismo efecto promovido por la proteína Smurf1 purificada, concluyendo que Smurf1 promueve la ubiquitinación de KiSS-1 en células SW579 y TPC-1. Por otra parte, el plásmido pc-KiSS-1 fue empleado para incrementar los niveles relativos de expresión de KiSS-1 en SW579 y TPC-1, posterior a la transfección, los niveles de expresión de p-p65 y p-IkBa en ambas líneas celulares fueron disminuidos, también observaron que esta transfección resultó en niveles bajos de NF- κ B, esto implica que KiSS-1 también está involucrado en la regulación de la vía de señalización de NF- κ B, y además, que la sobreexpresión de KiSS-1 inhibe la misma vía de señalización (Yan C. *et al.*, 2018).

Posteriormente, analizaron los efectos de la sobreexpresión de KiSS-1 en la viabilidad, migración, invasión, proliferación y apoptosis; y observaron que la transfección de pc-KiSS-1 suprimió notablemente todas las características anteriores, incluida la formación de colonias. Comparado con el plásmido vacío pcDNA3.1 del grupo control, los niveles de expresión de Bax, Caspasa-3 escindida y Caspasa-9 escindida, incrementaron con la transfección de pc-KiSS-1, con la consecuente inducción de apoptosis. Con estos resultados, Yan y colaboradores, reportaron que Smurf1 se encuentra altamente expresado en tejidos tumorales de tiroides, y que esta sobreexpresión aumenta la viabilidad celular, así como la migración, invasión y proliferación. Por el contrario, el bloqueo de Smurf1 mediante la transfección de sh-Smurf1 tuvo los efectos contrarios; además, con la sobreexpresión de KiSS-1 se provocó la inactivación de NF- κ B y sus efectos antes mencionados (Yan C. *et al.*, 2018).

Es interesante que los niveles de expresión de KiSS-1 comúnmente se encuentran disminuidos o completamente perdidos en una variedad de cánceres a través de mecanismos o vías que aún no han sido comprendidos en su totalidad.

En los resultados observados por Yan y colaboradores, se reveló que Smurf1 regula negativamente los niveles de proteína de KiSS-1, sin influenciar en sus niveles de mRNA. Con los experimentos siguientes, se dieron cuenta que Smurf1 promueve la ubiquitinación de KiSS-1 en células de cáncer de tiroides, con lo que sugieren una metástasis aumentada debido a la degradación de KiSS-1 dependiente de ubiquitina (Yan C. *et al.*, 2018).

En otro estudio del año 2015 realizado por Chen y colaboradores, se comprobó que la sobreexpresión de KiSS-1 en células de cáncer colorrectal HTC-116, inhibió la proliferación, migración e invasión a través de la vía de señalización de NF- κ B (Chen S. *et al.*, 2015).

Además, Cho y colaboradores, en 2009 señalaron que KiSS-1 inhibe la invasión celular de cáncer de mama inducida por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), por medio de la disminución en la activación de NF- κ B mediada por proteína homóloga de Ras (RhoA) (Cho S. G. *et al.*, 2009).

Sin embargo, en el estudio realizado por Yan y colaboradores, los niveles de expresión de la proteína p-p65 y p-IkB α se vieron disminuidos después de la sobreexpresión de KiSS-1, indicando que KiSS-1 también se encuentra involucrado en la regulación de la vía NF- κ B en células de cáncer de tiroides. Estos resultados fueron consistentes con el estudio de Morello y colaboradores, en 2009, donde demostraron que el agonista del receptor de adenosina A3 (CI-IB-MECA) promovió la apoptosis de células de cáncer de tiroides inducida por el ligando inductor de apoptosis (TRAIL) relacionado con el factor de necrosis tumoral (TNF), a través de la supresión de la vía de señalización de NF- κ B (Morello S. *et al.*, 2009).

Por último concluyeron que la degradación de KiSS-1 dependiente de ubiquitina inducida por Smurf1 y la activación de la vía de señalización de NF- κ B están involucradas en el desarrollo de los procesos metastásicos y proliferativos del cáncer de tiroides (Yan C. *et al.*, 2018).

6. Cáncer de vejiga

El cáncer de vejiga es una enfermedad compleja con una alta morbilidad y mortalidad. Es la cuarta neoplasia maligna más frecuente y la segunda causa más común entre los tumores urinarios (Siegel R. L. *et al.*, 2017; Klotz L. *et al.*, 2015). Se dividen en dos categorías: cáncer de vejiga músculo no invasivo (NMIBC por sus siglas en inglés) y cáncer de vejiga músculo invasivo (MIBC). Este último se asocia con un mayor grado de malignidad y una mayor tasa de metástasis, siendo responsable del 100% de las muertes de los pacientes, alrededor de un tercio de pacientes se encuentran dentro de esta clasificación, la cual tiene un grave pronóstico (Kamat A. M. *et al.*, 2016).

La tasa de supervivencia a 5 años puede ser menor de 50%. Una parte importante de los pacientes desarrolla metástasis antes o después del tratamiento radical, aunado a esto, la presencia de metástasis regional o distal, reduce la tasa de supervivencia de 5 años a 33% y 6% respectivamente. La cistectomía radical es el tratamiento curativo estándar para pacientes con MIBC localizado, incluida la extirpación de ganglios linfáticos bilaterales. Dependiendo de la extensión del tumor y los ganglios linfáticos involucrados, el tratamiento recomendado es la quimioterapia perioperatoria basada en cisplatino; algunas mejoras en la supervivencia pueden lograrse mediante un sistemático tratamiento combinado de los métodos antes mencionados (Witjes J. A. *et al.*, 2014).

Por otra parte, la quimioterapia perioperatoria está lejos de ser no tóxica y el beneficio de supervivencia sólo puede ser descrito como modesto. Estratificar a los pacientes a favor o en contra del tratamiento sistémico preoperatorio actualmente depende del examen histopatológico, el cual puede conducir a un tratamiento excesivo o insuficiente de MIBC, en particular, cuando se utilizan muestras tumorales de resección transuretral. Ciertamente existe una urgente necesidad de identificar biomarcadores, que puedan ser utilizados para complementar los parámetros histológicos de guía e individualizar el proceso en la toma de decisiones. La progresión tumoral de la enfermedad localizada a metastásica se cree que representa una adquisición paso a paso de rasgos moleculares derivados de alteraciones genéticas o epigenéticas. En cuanto a las alteraciones moleculares, la metilación del ADN parece ser un biomarcador y un objetivo terapéutico particularmente prometedor, ya que las

alteraciones ocurren en etapa temprana durante la carcinogénesis, que puede revertirse farmacológicamente en todo el genoma (McAllister & Weinberg 2014; Esteller M. 2007).

Si bien varios informes han perfilado cambios en la metilación del ADN a nivel global del epigenoma y del gen candidato, poco se sabe sobre los cambios durante la progresión metastásica. Varios autores han demostrado que el aumento de la metilación del ADN está asociado con tumores agresivos y mayores tasas de recurrencia, progresión y mortalidad específica por cáncer (Dhawan D. *et al.*, 2006; Phe V. *et al.*, 2009).

Otro tipo de alteración en la progresión del cáncer se debe a los microRNAs, los cuales son ARN cortos, no codificantes, monocatenarios de aproximadamente 22 nt de longitud que están estrechamente relacionados con el desarrollo del cáncer. Regulan la expresión del mRNA reconociendo y uniéndose a la región 3'UTR (Three prime untranslated region) de los mRNA diana, afectando su estabilidad o inhibiendo su traducción de proteínas. La función de los miRNAs como supresores de tumores u oncogenes depende de las funciones de su mRNA objetivo y las etapas del cáncer. Su expresión anormal se considera como biomarcador para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer. En específico, la alteración potencial y función biológica de miRNA-3648 en el cáncer de vejiga permanece inexplorada (Baoen S. *et al.*, 2014; Seven M. *et al.*, 2014).

El factor de transcripción 21 (TCF21) se localiza en el cromosoma 6q23, y pertenece a la familia básica hélice-bucle-hélice. Se encuentra regulado negativamente en varios tumores malignos, incluidos los de pulmón, mama, colon y estómago y está asociado con la ocurrencia, invasión y metástasis tumoral, por lo tanto, podría ser un mediador importante implicado en la progresión tumoral y, ha sido identificado como un blanco directo de miR-3648. (Dai Y. *et al.*, 2017; Acharya A. *et al.*, 2012).

Sun y colaboradores, en 2019, realizaron experimentos donde examinaron la alteración de miR-3648 en tejidos de cáncer de vejiga, en comparación con sus tejidos no tumorales adyacentes, o en líneas celulares de cáncer de vejiga contra líneas celulares uroteliales normales, evaluando el papel biológico y mecanismo molecular que sustenta la acción de miR-3648 en la invasión y metástasis del cáncer de vejiga. Con el objetivo de confirmar la función de miR-3648 en cáncer de vejiga, analizaron su expresión mediante PCR en tiempo real en 33 pares de tejidos de cáncer de vejiga humanos frescos y tejidos adyacentes no

tumorales (a 3 cm del margen de la lesión tumoral), y los resultados mostraron que miR-3648 se encontraba sobreexpresado en tejidos de cáncer de vejiga (Sun W. *et al.*, 2019).

Esta noción fue apoyada por los resultados obtenidos del análisis bioinformático de los 19 pares de pacientes con cáncer de vejiga de la base de datos The Cancer Genome Atlas (TCGA), el cual mostró que la expresión de miR-3648 es significativamente mayor en estos pacientes que en controles normales. Estos resultados confirmaron que la expresión de miR-3648 es mayor en células de cáncer de vejiga, en comparación con dos líneas celulares inmortalizadas SV-HUC-1 y UROtsa. Para explorar la función de miR-3648, emplearon las líneas celulares UMUC3 y T24T, en las cuales transfectaron un inhibidor específico de miR-3648 y un vector control. Ensayos Transwell fueron realizados para examinar los efectos de migración e invasión, con células UMUC3 (miR-3648i), T24T (miR-3648i), y las correspondientes células control. Los resultados indicaron que el número de células que invadieron y migraron fue menor en las que contenían el inhibidor (miR-3648i), que en las vector control, indicando de esta manera que la sobreexpresión de miR-3648 tiene un efecto positivo sobre la migración e invasión de las líneas celulares UMUC3 y T24T *in vitro*, correlacionado con la metástasis de cáncer de vejiga. El ensayo de cierre de herida demostró que, 36 horas después del rasgado en la monocapa, el área de la herida era más pequeña en células T24T (miR-3648) que en el control (Sun W. *et al.*, 2019).

Para examinar el mecanismo subyacente a la regulación de la migración e invasión de cáncer de vejiga por miR-3648 en relación a la supresión de la expresión del gen objetivo mediada por la unión a 3'UTR, los posibles genes diana de miR-3648 se examinaron mediante proyección en TargetScan, la cual reveló que HOXA3 y TCF21 podrían ser genes diana del microRNA en cuestión, según ambos interactuarían con el extremo 5' de miR-3648. La inhibición del miRNA en células UMUC3 y T24T no tuvo un efecto consistente con respecto a HOXA3, mientras que TCF21 fue regulado de manera positiva. Contrario a los resultados anteriores, la sobreexpresión de miR-3648 reguló de manera negativa a TCF21 en ambas líneas. Para confirmar que TCF21 es un blanco directo de miR-3648, emplearon reporteros de luciferasa en 3'UTR del mRNA de TCF21, con esto, demostraron que la inhibición de miR-3648 resultó en la activación del reportero en el mRNA de TCF21 3'UTR-wild type (WT), mientras que dicha activación se eliminó por completo en el sitio de unión mutado por

miR-3648, confirmando así, que miR-3648 se une directamente al 3'UTR del mRNA de TCF21 para regular su expresión de manera negativa. Los resultados de PCR demostraron mayores niveles de mRNA de TCF21 en ambas líneas en presencia del inhibidor comparadas con las células con el vector control, además de los niveles de proteína; sugiriendo que miR-3648 regula a la baja a TCF21 a nivel de mRNA (Sun W. *et al.*, 2019).

Adicionalmente, la tinción inmunohistoquímica con H&E, y PCR en tiempo real indicó que la expresión de TCF21 era significativamente menor en tejidos de cáncer de vejiga en comparación con tejidos normales, con respecto a niveles de mRNA y proteína, indicando que TCF21 puede actuar como un supresor de metástasis en cáncer de vejiga. Esta noción fue verificada en la determinación funcional de TCF21, donde su sobreexpresión en células T24T y UMUC3, inhibió la migración e invasión celular. A continuación, el knockdown de TCF21 en las líneas celulares revirtió el efecto de miR-3648i sobre la migración e invasión. Sugiriendo que TCF21 es un blanco directo y mediador río abajo de miR-3648 en la migración e invasión de células cancerígenas (Sun W. *et al.*, 2019).

Además, Sun y colaboradores, exploraron los efectores secuencia abajo de miR-3648 y TCF21 en la promoción de células cancerígenas y los efectos de miR-3648 y miR-3648i en moléculas relacionadas con la invasión/migración, como MMP-2 y KiSS-1, que fueron evaluadas en ambas líneas celulares (T24T y UMUC3), expresando miR-3648 con normalidad y su versión inhibida. Los resultados mostraron que no hubo cambios significativos en la expresión de MMP-2, mientras que KiSS-1 fue notablemente regulado de manera positiva, correlacionado con la también regulación positiva de TCF21. Con estas observaciones sugirieron que KiSS-1 puede ser un efector río abajo de TCF21 en la mediación de la invasión cancerígena causada por la sobreexpresión de miR-3648. Una manera de apoyar esta noción fue evaluar la detección de KiSS-1 por Western Blot en células T24T y sus respectivos controles, demostrando que el knockdown de TCF21 atenuó drásticamente los niveles de KiSS-1, corroborando en gran medida que KiSS-1 es un objetivo en la secuencia de TCF21 en su modelo celular (Sun W. *et al.*, 2019).

Ya que KiSS-1 actúa como supresor de la invasión tumoral, evaluaron su potencial en células con regulación disminuida de miR-3648. La sobreexpresión de KiSS-1 en células T24T (miR-3648i/shTCF21#1), restauró el efecto de shTCF21 sobre la promoción de la migración

e invasión en células cancerígenas. Con todos estos datos en conjunto, los investigadores concluyeron que TCF21 es un objetivo directo de miR-3648 y que regula de manera positiva la expresión de KiSS-1 para la inhibición de migración e invasión. Adicionalmente, extendieron sus investigaciones a modelos *in vivo*, donde establecieron modelos de metástasis pulmonar en ratones desnudos mediante inyección en la vena de la cola de células T24T (vector), T24T (miR-3648i), UMUC3 (vector), y UMUC3 (miR-3648i). Dos meses después de la inoculación, extrajeron el tejido pulmonar de los ratones quirúrgicamente y lo fijaron con ácido pícrico por 24 horas, observando que, la inhibición de miR-3648 resultó en la supresión de la metástasis pulmonar de células cancerígenas, tanto en células T24T como en UMUC3, concordando con los resultados *in vitro*. Un total de 128 y 16 tumores metastásicos de pulmón fueron observados en los ratones inyectados con T24T (vector) y UMUC3 (vector) respectivamente, que se redujeron notablemente a 19 y 6 tumores, cuando fueron inoculados con T24T (miR-3648i) y UMUC3 (miR-3648i). Con estos resultados, Sun y colaboradores, concluyeron que miR-3648 tiene un papel oncogénico al dirigirse directamente e inhibir la expresión de la estabilidad de mRNA del supresor tumoral TCF21, lo que conlleva a una reducción en la expresión de KiSS-1, promoviendo la migración e invasión de células de cáncer de vejiga. Estos hallazgos brindaron información sobre el regulador secuencia arriba de TCF21, responsable de su expresión disminuida, y la posterior regulación negativa de su efector río abajo KiSS-1, para la promoción de la migración e invasión en cáncer de vejiga humano, con la consecuente deducción que miR-3648 podría ser un blanco terapéutico potencial para el tratamiento de esta enfermedad (Sun W. *et al.*, 2019).

Con respecto a las alteraciones epigenéticas asociadas a la metilación del ADN, Stubendorff y colaboradores, en 2019, realizaron un estudio en el cual identificaron un patrón de metilación del ADN adecuado para la evaluación de cáncer de vejiga músculo invasivo (MIBC) e investigaron los procesos asociados a la metástasis regulados por la metilación del DNA. Por medio de análisis de microarreglos, identificaron 67 CpGI distinguiendo ganglios linfáticos positivo (pN+) de ganglios linfáticos negativos (pN-). De estos, 24 CpGIs se encontraban hipermetilados y 43 hipometilados en MIBC con ganglios linfáticos positivos comparados con el grupo pN-. Para una evaluación adicional, seleccionaron el receptor de KiSS-1 (KiSS-1R), Septina 9 (SEPT9), y ácido sulfínico de cisteína descarboxilasa (CSAD),

ya que participan en la carcinogénesis urotelial, además, de su capacidad para identificar pacientes con cáncer de vejiga con metástasis en nódulos. La combinación de locus mejoró la evaluación de riesgos: los pacientes que tenían dos o tres locus con metilación por encima del valor de punto de corte correspondiente fueron asignados a un resultado positivo de la prueba que indicaba un mayor riesgo en el desarrollo de metástasis; a los pacientes con cero o un gen hipermetilado se les asignó un valor de prueba negativo, y por lo tanto un menor riesgo de metástasis. Mediante análisis de curva ROC, revelaron que la aplicación del panel de 3 genes mejoró la evaluación nódulos linfáticos positivos con una sensibilidad de 73% y especificidad de 71%. Diferencias significativas fueron encontradas en la expresión de KiSS-1R, estos niveles mostraron una proporcionalidad inversa a la metilación del ADN. De acuerdo a los resultados en la expresión del mRNA de KiSS-1R, este gen candidato fue seleccionado para tinción inmunohistoquímica en microarreglos de tejido (TMAs), en dos grupos independientes ($n=291$). De acuerdo con los resultados de mRNA, niveles significativamente bajos de proteína se detectaron en paciente pN+ (Stubendorff B. *et al.*, 2019).

Con respecto a SEPT9, 7 variantes de transcripción han sido descritas, mediante investigación literaria y análisis de variantes transcritas revelaron que la variante de transcripción SEPT9 3 (SEPT9v3) se encuentra disminuida por la metilación del promotor (Connolly D. *et al.*, 2011).

La sobreexpresión de KiSS-1R en células T24 se confirmó por qRT-PCR. El análisis funcional reveló que la sobreexpresión de KiSS-1R no tuvo impacto en la proliferación de células T24. Sin embargo, los análisis de migración celular resultaron en una tasa de migración reducida en un 25%, y el potencial invasivo reducido en un 5%. Para evaluar la influencia del cambio en la expresión de SEPT9v3, seleccionaron células 253J-BV ya que mostraban mayor expresión de SEPT9v3. 48 horas después del silenciamiento de SEPT9v3, su expresión se redujo en un 25% comparadas con las células transfectadas con el control. El análisis funcional dio como resultado un aumento del 10% en la proliferación celular, la migración aumentó un 28% y un 22% incrementó el potencial invasivo de las células 253J-BV (Stubendorff B. *et al.*, 2019).

Es bien sabido que el control epigenético alterado de la expresión génica es importante en el desarrollo y la progresión tumoral. Los cambios en la metilación del DNA son detectables en etapas precancerosas y se correlacionan con la agresividad de los tumores. En el estudio de Stubendorff y colaboradores, los eventos epigenéticos dentro del cáncer de vejiga músculo invasivo (MIBC) se investigaron más a fondo, para la definición de un panel pronóstico que estratifique el uso de quimioterapias neoadyuvantes. El análisis del genoma reveló diferencias de metilación asociadas con la metástasis en nódulos linfáticos, en el momento de la cistectomía. Esta característica patológica es uno de los más fuertes predictores de muerte específica por cáncer y, por lo tanto, puede ser utilizado para las decisiones relacionadas con la quimioterapia. Con los datos obtenidos de la metilación combinada de KiSS-1R, SEPT9 y CSAD, sugirieron la posibilidad de un panel adecuado para la evaluación del riesgo metastásico del cáncer de vejiga músculo invasivo (MIBC). En el panel de metilación, utilizaron análisis de Kaplan-Meier para evaluar aún más su potencial como pronóstico. Los datos mostraron que los pacientes con pocos (0-1 de 3) genes hipermetilados tenían una progresión libre de enfermedad más prolongada comparados con aquellos que presentaban más (2-3 de 3) genes hipermetilados. Los genes candidatos seleccionados por el grupo de investigación, tienen un potencial biológico interesante; KiSS-1R es un receptor acoplado a proteína G implicado en la inhibición del crecimiento y diseminación tumoral. La activación por su ligando endógeno resulta en la liberación de calcio intracelular y la inducción de diferenciación celular y apoptosis. Interviene en la activación de la señalización de MAPK y puede contribuir a la disminución de la expresión de MMPs a través de la degradación de NF- κ B lo que conduce a la metástasis reducida. A nivel funcional, Stubendorff y colaboradores, demostraron una tendencia a la migración celular reducida cuando KiSS-1R se expresaba en células T24. En cuanto a los resultados de metilación, los datos indicaron que KiSS-1R se encontraba hipermetilado y, en consecuencia, con una expresión disminuida, lo que contribuye a la propagación de células tumorales dentro del proceso metastásico. Además de las diferencias notables en la metilación del ADN, los análisis sobre los niveles de expresión del mRNA y proteína revelaron diferencias significativas entre los tumores con ganglios linfáticos positivos y negativos para KiSS-1R. Especialmente la importancia en ambos niveles subraya la idoneidad de KiSS-1R para la evaluación del pronóstico. (Stubendorff B. *et al.*, 2019).

La función fisiológica de SEPT9 es la regulación estructural del citoesqueleto durante la división celular, estando involucrado en varios procesos celulares como el transporte vesicular, segregación cromosómica, organización de actina y arresto del ciclo celular, y se ha descrito que tiene funciones supresoras de tumor y oncogénicas (Sorensen A. B. *et al.*, 2002; Kremer *et al.*, 2007).

Stubendorff y colaboradores, llevaron a cabo la inhibición específica de SEPT9v3 en células de cáncer de vejiga, lo que resultó en un incremento importante de la migración e invasión celular. Estas observaciones remarcan que su expresión puede inhibir la migración e invasión (capacidades atenuadas por la hipermetilación). Como conclusión, identificaron un panel pronóstico de metilación que permitiría la diferenciación entre pacientes MIBC con estados positivos o negativos en nódulos linfáticos al momento de la cistectomía. Esto permitiría una evaluación de riesgos más detallada para los pacientes, que también se benefician de la disección extendida de ganglios linfáticos, así como de la quimioterapia neoadyuvante y que, finalmente podría mejorar las tasas de supervivencia de pacientes con cáncer de vejiga músculo invasivo (Stubendorff B. *et al.*, 2019).

7. Cáncer gástrico

De acuerdo con la American Cancer Society, el cáncer gástrico es un término con el que se denomina a cualquier tumor maligno que surge de las células de alguna de las capas del estómago. La mayoría de los cánceres gástricos se origina en la mucosa, siendo el adenocarcinoma el tipo histológico más frecuente (>90% de los casos). Otros tipos histológicos de menos incidencia son los linfomas, los sarcomas, los tumores del estroma gastrointestinal, los tumores neuroendocrinos y los melanomas. Cuando se habla de cáncer gástrico se hace referencia en general, al adenocarcinoma gástrico mientras que, si el tumor es de otro tipo se denomina linfoma gástrico (Icaza-Chávez, M. E. *et al.*, 2020).

A nivel mundial el cáncer gástrico fue el 5to cáncer más frecuente con 1.08 millones de casos nuevos, en 2020, lo que supone el 5.6% de total de cánceres en ese año (GLOBOCAN, 2020).

La clasificación más empleada para el cáncer gástrico es el TNM de la UICC/AJCC (Union for International Cancer Control / American Joint Committee on Cancer): la 'T' es por Tumor, la 'N' por ganglios (Nodes en inglés) y la 'M' por Metástasis. En función del T, N y M se definen los estadios:

- Estadio 0 o carcinoma *in situ*: Es la etapa más inicial del cáncer. Se localiza en la parte más superficial de la mucosa, y no infiltra las otras capas del estómago, no invade los ganglios regionales ni produce metástasis a distancia.
- Estadio I: El tumor invade la capa más profunda de la mucosa (lamina propia) o la submucosa sin afección de ganglios linfáticos (estadio IA) o con afección de 1 a 6 ganglios (IB). No hay metástasis a distancia. Después del estadio 0, es el más favorable.
- Estadio II y Estadio III: Son etapas intermedias. El estadio II tiene mejor pronóstico que el III. Para establecer estos estadios, se consideran tanto el nivel de afección de la pared gástrica como el número de ganglios afectados por el tumor.
- Estadio IV: Es la etapa más avanzada. Su pronóstico es el peor; existe metástasis a distancia en hígado, pulmón, huesos, ovarios, ganglios alejados del estómago, etc.

La supervivencia de los pacientes con cáncer gástrico se relaciona con estos estadios siendo >95% en el estadio 0 y va descendiendo a medida que aumenta el estadio.

El gen *KiSS-1* ha sido reportado en varios estudios como expresado en bajos niveles, Dhar y colaboradores, en 2004, realizaron el primer estudio donde demostraron que la regulación negativa de *KiSS-1* conlleva a una frecuente invasión, además de volverse un factor pronóstico determinante (Dhar D. P. *et al.*, 2004).

Probablemente esto pueda estar relacionado a que *KiSS-1* se encuentra mapeado en el cromosoma 1q y la pérdida de heterocigosidad (LOH; Loss of Heterozygosity) del brazo largo del cromosoma 6 se ha asociado con la pérdida de *KiSS-1* y la progresión del melanoma (Shirasaki F. *et al.*, 2001).

De manera interesante, se han reportado frecuentes pérdidas de alelos en los cromosomas 1q y 6q en carcinomas gástricos avanzados, implicando una estrecha relación entre LOH y la regulación a la baja de *KiSS-1*, unque, también existen otras posibilidades como la delección

homocigota, promoción de la metilación, o mutaciones en el gen *KiSS-1*. (Jiao, Y. F. *et al.*, 2006; Carvalho B. *et al.*, 1999; Queimado L. *et al.*, 1995; Sano T. *et al.*, 1991).

La invasión de células tumorales en los vasos sanguíneos recién formados es un paso crucial en la metástasis tumoral, en el estudio de Dhar y colaboradores, del 2004, los tumores con poca expresión de *KiSS-1* presentaban una frecuente invasión vascular, esto se ha visto apoyado por el estudio de Sanchez-Carbayo y colaboradores, en 2003, quienes reportaron una correlación similar entre la baja expresión de *KiSS-1*, la invasión vascular y el incremento en la metástasis distal en cáncer de vejiga, volviéndose un factor pronóstico importante en la supervivencia del paciente en términos de supervivencia general y libre de enfermedad (Dhar D. P. *et al.*, 2004; Sanchez-Carbayo M. *et al.*, 2003) .

Guan-zhen y colaboradores, en 2007, reportaron la expresión de proteína reducida en algunos genes relacionados con la metástasis, entre estos se encuentran nm23, *KiSS-1*, *KAI1* y p53; mediante inmunohistoquímica en 71 muestras de pacientes, como resultado, observaron que la expresión de *KiSS-1*, nm23 y *KAI1* se encontraba reducida en metástasis, especialmente en el hígado, comparadas con el tumor primario, mientras que p53 se encontraba altamente expresado en ambos casos sin diferencia significativa. Basados en los niveles de proteína, demostraron que la expresión de *KiSS-1* y *KAI1* mostraban tendencia a estar reducida en la mucosa normal del tumor primario y luego en la metástasis. La pérdida de *KAI1* se observó en 25.4% (18/71 de tumores primarios), 34.4% (22/64 metástasis nodales), y 50% (20/40 de las metástasis a hígado). Las tasas de pérdida de *KiSS-1* fueron 25.4% (18/71), 39.1% (22/64) y 42.5% (17/40). Esto implica que *KiSS-1* y *KAI1* fueron perdiendo gradualmente sus funciones con el avance de la metástasis. Tanto en los tumores primarios como en las metástasis iniciales se observaron expresiones positivas de *KiSS-1* y *KAI1*. Este fenómeno en el carcinoma gástrico sugiere que la expresión elevada de ambos genes podría reducir el potencial metastásico. Sugiriendo que la expresión de nm23, *KAI1* y *KiSS-1* se reduce, mientras aumenta el proceso de transformación del tumor primario a metástasis (Guan-zhen Y. *et al.*, 2007).

Las investigaciones más recientes sobre *KiSS-1* en cáncer de estómago fueron realizadas por Li y colaboradores, en 2020, reportando la presencia de *KiSS-1* hipermetilado en tejidos cancerosos en comparación con los tejidos adyacentes correspondientes, indicando que la

metilación contribuye a la progresión del carcinoma. Los análisis estadísticos de los niveles metilados del promotor de *KiSS-1* y los parámetros patológicos de los pacientes indicaron una asociación entre metástasis en nódulos linfáticos, el estadio TNM III+IV y la mayor tasa positiva de metilación del promotor. Demostrando que la complejidad de la patogénesis no es solo un reflejo del cambio genético por mutación o delección, sino también de las alteraciones epigenéticas, como la metilación, la cual se ha confirmado estar relacionada con la diferenciación tumoral, profundidad de la invasión, metástasis a nódulos linfáticos y recurrencia predictiva. Adicionalmente, confirmaron que los bajos niveles de expresión de proteína de *KiSS-1* se asociaban con un bajo grado histológico, metástasis a nódulos, y estadios TNM avanzados (III+IV). Basados en estos resultados, sugirieron que *KiSS-1* participa en la inhibición de metástasis; para confirmar esta idea, sobreexpresaron en células AGS y HGC-27 a *KiSS-1*, observando que inhibió significativamente la migración e invasión (Li C. *et al.*, 2020).

Ha sido el estudio más completo, ya que investigaciones previas solo habían examinado la expresión de *KiSS-1* y *KiSS-1R* en tejidos de cáncer gástrico o parte de su papel biológico en líneas celulares, limitándose además a ensayos de inmunohistoquímica, análisis de imágenes e hibridación *in situ*, reportando que la expresión de *KiSS-1* era elevada en mucosa gástrica normal comparada con tejido tumoral, además, los tejidos en etapa avanzada (Estadio III y IV), con invasión linfovascular y tipo histológico difuso, presentaban menor niveles de expresión de *KiSS-1*. Por otra parte, los niveles de *KiSS-1R* no se detectaron en células malignas, mientras que solo una pequeña cantidad se detectó en la lámina basal (Kostakis I. D. *et al.*, 2018).

Li y colaboradores, incluyeron la expresión de mRNA y proteína, estado de metilación, y datos clinicopatológicos, así como funciones biológicas después de la sobreexpresión y regulación negativa de *KiSS-1* (Li C. *et al.*, 2020).

Wang y colaboradores., en 2021, realizaron el último estudio hasta la fecha relacionando ARN largos no codificantes (lncRNAs), los cuales exhiben un gran potencial para la terapia dirigida en varios tipos de cáncer. Específicamente, el lncRNA LINC01021 ha sido identificado por medio de análisis diferencial en la base de datos Gene Expression Omnibus, en la cual, entre el patrón de expresión de los 10 principales genes expresados

diferencialmente, se encontraba LINC01021 significativamente incrementado en cáncer de estómago, comparado con tejidos normales, sin embargo, pocas evidencias literarias han reportado su función reguladora. Mediante una predicción sobre el sitio de expresión de LINC01021, revelaron que se expresaba principalmente en el núcleo, sugiriendo que tiene una función reguladora a través de la modulación de factores de transcripción. Para detectar la expresión de LINC01021 y validar los resultados de la base de datos, compararon 78 muestras de pacientes con cáncer de estómago (GC) y tejidos adyacentes normales, observando que LINC01021 se encontraba sobreexpresado en tejidos cancerosos. Analizando estadísticamente la relación entre la expresión de LINC01021 y los indicadores clínicos, descubrieron correlaciones significativas entre el lncRNA y el estadio patológico, la metástasis distal, el grado de diferenciación y tamaño del tumor. Además, el análisis de qRT-PCR en 4 líneas celulares de GC y líneas humanas de la mucosa gástrica normal mostraron una alta expresión de LINC01021 en las líneas provenientes de cáncer gástrico AGS, SGC-7901, BGC823 y NCI-N87. Las líneas BGC823 y SGC-7901 fueron seleccionadas por su mayor expresión del lncRNA. Posterior al silenciamiento de LINC01021, los ensayos en cámara Transwell y Western blot revelaron que se inhibió la invasión y migración celular, observando niveles reducidos de N-cadherina y vimentina, con un efecto contrario en E-cadherina. Los ensayos de formación de tubos mostraron que si-LINC01021 inhibe la formación de tubos capilares, VEGF y la expresión de CD34 (Wang Y. *et al.*, 2021).

Por otra parte, el silenciamiento de CDX2 con si-CDX2 incrementó la expresión de VEGF y CD34 en células HUVEC, aún con el silenciamiento de LINC01021 y la sobreexpresión de KiSS-1. Sugiriendo que LINC01021 regula negativamente a KiSS-1 a través de CDX2, promoviendo la invasión, migración y angiogénesis, adicionalmente, han reportado que CDX2 está regulado negativamente en tejidos cancerosos de estómago. Además, como las células BGC823 fueron tratadas con el inhibidor de síntesis de proteínas cicloheximida (CHX) durante 8 horas, el silenciamiento de LINC01021 mejoró significativamente la estabilidad de la proteína de CDX2, indicando que LINC01021 puede regular la expresión y afectar la estabilidad de CDX2. La evidencia emergente destacó la capacidad de este lncRNA para unirse y modular un factor de transcripción, o incluso otra proteína involucrada en la expresión génica, ejerciendo así efectos específicos sobre la célula (Wang Y. *et al.*, 2021).

Por ejemplo, estudios previos han mostrado que AC093818.1 (lncRNA) puede regular positivamente el nivel de PDK1 (proteína 3-fosfoinositida dependiente de la proteína cinasa-1) mediante la activación transcripcional, lo que ocurrió al reclutar al transductor de señales de factores de transcripción y el activador de la transcripción 3 y SP1 hacia el promotor de PDK1, aumentando de esta manera la metástasis en cáncer de estómago (Ba M. C. *et al.*, 2020).

Respecto a KiSS-1, se ha sugerido que inhibe la proliferación e invasión de células malignas de estómago *in vitro* e *in vivo* a través de la regulación negativa de MMP-9. Wang y colaboradores, confirmaron que KiSS-1 era un blanco de CDX2, demostrando que el silenciamiento de LINC01021 incluso afectó la expresión de KiSS-1. Posteriormente, notaron que CDK2 se une a CDX2, según el ensayo de co-inmunoprecipitación (coIP), la IP se llevó a cabo con anti-fosfoserina y la expresión de CDX2 se detectó mediante Western blot. Los resultados indicaron que la sobreexpresión de CDK2 puede promover significativamente la fosforilación de serina CDX2 y cuando se silenció CDK2, la fosforilación de CDX2 se inhibió de manera importante. Adicionalmente, los análisis por qRT-PCR y Western blot, demostraron que CDK2 reduce la expresión de CDX2 y KiSS-1, indicando que CDK2 permite a la proteína CDX2 mantenerse en el citoplasma promoviendo su fosforilación, previniendo así la activación de KiSS-1 por CDX2 (Wang Y. *et al.*, 2021).

Por lo tanto, estos resultados, junto con investigaciones previas demuestran que LINC01021 participa regulando procesos biológicos a través de la interacción entre CDX2, CDK2 y KiSS-1, lo que resalta su potencial como biomarcador para el tratamiento de cáncer de estómago.

8. Cáncer de ovario

Existen dos tipos principales de cáncer de ovario: Epitelial (CEO), que ocurre en el 95% de los casos a partir de los 45 años de edad, y el Germinal (CGO), que aparece en el 5% de los casos y afecta principalmente a adolescentes y mujeres jóvenes, además de tener mayores posibilidades de ser curado. El tipo epitelial representa un importante problema de salud pública a nivel mundial y en México. Su creciente incidencia, diagnóstico generalmente

tardío y elevada tasa de mortalidad, han generado en los últimos años un gran interés en la detección oportuna (Secretaría de Salud, 2021).

En el panorama mundial, de acuerdo con la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer en 2018, a nivel global, en mujeres de 15 años y más, el continente asiático representó un 50% del total de defunciones (184 332) con 92 111 mujeres que fallecieron por esta causa, le siguen Europa con el 24.2%, África con 9.1%, Norteamérica con 8.6%, América Latina y la región del Caribe con 7.4% y finalmente Oceanía con 0.79% (IARC 2018).

El cáncer de ovario es una neoplasia en la que aproximadamente el 80% de los casos responde al tratamiento primario, sin embargo, presenta una elevada frecuencia de recaída (60 a 70%), debido a que el 75% de los casos son diagnosticados en estadios III y IV, favorecido por sintomatología poco específica, falta de programas de tamizaje y con frecuencia, desconocimiento de la sintomatología inicial por el personal de la salud y la población en general. Por su magnitud, trascendencia y vulnerabilidad, constituye un importante problema de salud pública en nuestro país, debido al incremento en la tasa de mortalidad y por generar elevados costos para las mujeres y sus familias, así como para el sector salud. Desafortunadamente, México no cuenta con una estrategia de tamizaje que permita el diagnóstico temprano y oportuno de esta neoplasia (Secretaría de Salud 2021).

Jiang y colaboradores, en 2005, realizaron el primer estudio de KiSS-1 en cáncer de ovario donde mencionaron la participación de KiSS-1 en la colonización *in vivo* y como su papel fisiológico en el sistema reproductor femenino lo hace un candidato particularmente interesante para la supresión de metástasis en el cáncer de ovario. Los ensayos realizados en modelos *in vivo* mostraron que, dentro de un periodo de tiempo corto, encontraron focos metastásicos más pequeños, en comparación con ratones sacrificados 35 días después, sin embargo, no probaron los efectos de KiSS-1 *in vivo* por más de 35 días. En el ovario normal humano, no detectaron expresión de KiSS-1 ni de su receptor KiSS-1R. Además, han reportado que cuando un gen KiSS-1 que tiene eliminada la secuencia que codifica el péptido de KiSS-1 se transfectó a células SKOV3, perdió su capacidad de bloquear la migración celular, sugiriendo que una forma secretora de KiSS-1 puede ser responsable de esta función. Para ese tiempo los fármacos dirigidos a PKC como la briostatina-1, UCN-01, CGP41251, y

oligonucleótidos anti-sentido contra PKC α se encontraban en ensayos clínicos como agentes antitumorales (Jiang Y. *et al.*, 2005).

Ya que las PKCs se encuentran involucradas en la migración tumoral a través de la regulación de las MMPs y sus inhibidores, la inducción del factor de crecimiento vascular endotelial y la estimulación de la proliferación de células tumorales, algunos estudios han indicado que PKC α juegan un papel importante en el fenotipo resistente a fármacos (Shi S. C. *et al.*, 1999; Park M. J. *et al.*, 2000; Gill P. K. *et al.*, 2001).

Los datos de Jiang y colaboradores, mostraron que KiSS-1 inhibe significativamente la migración celular, la cual puede ser revertida por la activación de PKC con PMA (Forbol 12-miristato 13-acetato), sugiriendo que la inhibición de PKC puede ser un importante mecanismo por el que KiSS-1 ejerce sus efectos en este tipo de cáncer. La regulación a la baja de PKC α utilizando RNAi suprime la reversión de PMA, apoyando la noción de que la inhibición de PKC y/o sus objetivos secuencia abajo son partes importantes para la acción de KiSS-1, proporcionando un vínculo entre la supresión de metástasis de KiSS-1 y PKC α . Estos resultados expandieron los horizontes de la comprensión de la función del gen (Jiang Y. *et al.*, 2005).

Prentice y colaboradores, en 2007, realizaron un estudio inmunohistoquímico de 518 pacientes, donde la escala de tinción se designó como 0 (negativo), +1 (leve-moderado) y +2 (fuerte), los casos con tinción fuerte fueron considerados positivos para KiSS-1 o KiSS-1R y designados como 1, mientras que los otros casos fueron considerados como negativos y designados 0. De los 518 casos, 44 presentaban tinción +2, 98 presentaban intensidad +1, y 354 casos fueron negativos para KiSS-1R, mientras que 22 casos no fueron interpretables. El análisis de supervivencia específica mostró que KiSS-1R se asoció significativamente con un pronóstico favorable, al igual que la supervivencia general. Además, el análisis multivariado de supervivencia incluyó, estado, grado histológico, subtipo, edad y tasa de expresión de KiSS-1R, indicaron al receptor como un marcador independiente de pronóstico favorable. Realizaron pruebas para encontrar una asociación entre el subtipo de carcinoma ovárico y el estado de KiSS-1, observando un efecto positivo altamente significativo asociado con el carcinoma de células claras y una importante asociación negativa con el subtipo de carcinoma seroso. Los casos positivos de KiSS-1R también tuvieron un impacto positivo

asociado con el subtipo de carcinoma de células claras y asociación negativa con el subtipo seroso (Prentice L. M. *et al.*, 2007).

Aunque los carcinomas de células claras comprenden menos del 5% de neoplasias malignas de ovario, son notoriamente difíciles de tratar debido a su tendencia a resistir la quimioterapia basada en platino (Pectasides D. *et al.*, 2006).

Demostraron por primera vez que la inmunoreactividad entre KiSS-1 y KiSS-1R marca un pronóstico favorable, siendo KiSS-1 independiente de la patología, subtipo, estadio, grado o edad tanto general como supervivencia específica, mientras que, KiSS-1R es un marcador independiente en la supervivencia global. Dentro de los carcinomas de células claras, los que expresan KiSS-1R tienen un pronóstico favorable y para ese tiempo fue el primer marcador pronóstico molecular específicamente aplicable al cáncer de ovario de células claras (Prentice L. M. *et al.*, 2007).

Otro estudio similar fue realizado por Hata y colaboradores., en 2007, donde por medio de análisis qRT-PCR evaluaron la expresión de Kp-54 (kisspeptina-54), KiSS-1R y GAPDH, en 76 muestras de cáncer de ovario epitelial, y examinación de tejidos por hibridación *in situ* demostrando que la presencia de tumor residual después de la resección se asoció negativamente con la expresión del gen *KiSS-1* y su receptor KiSS-1R, lo que indica una asociación entre la baja expresión y tumores más agresivos y avanzados ya que mediante análisis de regresión de Cox, el pronóstico de los pacientes con bajos niveles del receptor KiSS-1R fue significativamente peor que aquellos con niveles más altos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Jiang y colaboradores, en 2005, quienes encontraron que la expresión de KiSS-1 inhibe la migración de células SKOV3 y reduce la formación de colonias sin afectar la proliferación celular. Hata y colaboradores, detectaron mediante análisis de hibridación *in situ* transcritos para Kp-54 y KiSS-1R en las células de carcinoma epitelial de ovario. Del mismo modo, es posible que los altos niveles de expresión sean responsables de la inhibición de la invasión y migración, sin embargo, las especulaciones requerían mayor investigación (Hata K. *et al.*, 2007).

Cao y colaboradores, en 2016, realizaron un estudio enfocado en el estudio de la expresión preoperatoria de KiSS-1 en tejidos tumorales y su valor pronóstico. Mediante exámenes patológicos y de imagen, entre los 40 pacientes citados para cirugía citorrreductora de CEO

entre enero del 2010 y enero del 2014, se incluyeron 24 pacientes (60%) con cistoadenocarcinoma seroso, 6 (15%) cistoadenocarcinoma mucoso, 7 (17.5%) carcinoma endometriode y 3 (7.5%) carcinoma de células claras. De acuerdo con el sistema de estadificación FIGO (2006), 7 (17.5%) casos en estadio I, 5 (12.5%) en estadio II, 24 (60%) en estadio III y 4 (10%) en estadio IV. En cuanto al grado histológico, los tumores se dividieron en 12 (30%) de los casos en G1, 8 (20%) en G2 y 20 (50%) en G3. Según el análisis de Kaplan-Meier, la tasa de supervivencia general y el tiempo medio de supervivencia fueron de 28.9% (11/38) y 38.35 ± 2.84 meses (95% CI, 32.78-43.92 meses) respectivamente. Por otro lado, 33 pacientes (incluyendo casos en estadio FIGO II-IV) tenían metástasis y 7 casos (estadio FIGO I) no presentaban metástasis. No hubo diferencias entre la edad, IMC y gravedad entre los grupos de pacientes, mientras que los niveles preoperatorios de mRNA KiSS-1 en tejidos tumorales fueron más altos que en tejidos normales. De manera interesante, observaron que esta expresión preoperatoria se asoció con el grado histológico, estadio FIGO, metástasis y tamaño del tumor residual. La expresión de KiSS-1 fue mayor en el grado histológico G1 y estadio FIGO temprano (I-II), en comparación con los de alto grado (G2, G3) y estadio avanzado (III y IV). Además, los pacientes sin metástasis o tumores residuales pequeños presentaban niveles preoperatorios más altos de mRNA KiSS-1 que los metastásicos o tumores residuales grandes. De acuerdo a los resultados; la presencia de metástasis y el tamaño del tumor residual se encuentran relacionados negativamente con los altos niveles de expresión de KiSS-1, sugiriendo que los pacientes con bajos niveles están sujetos a un peor pronóstico, sin embargo, los autores abordan varias limitaciones en el estudio; primero, la cantidad de pacientes incluidos no fue suficiente, segundo, no se realizaron comparaciones entre el tumor primario y el sitio metastásico para la detección de mRNA KiSS-1 mediante inmunohistoquímica, y tercero, la experiencia de un solo hospital (Hospital Afiliado de la Universidad de Nantong, China) no puede generalizarse a un ámbito comunitario más amplio (Cao F. *et al.*, 2016).

Por último, Qiu y colaboradores, en 2019, realizaron un estudio sobre el lncRNA TC0101441 en CEO, en el cual realizaron una serie de experimentos *in vitro* e *in vivo*. Previamente aislaron un nuevo lncRNA inducido por estrógeno (E2) también llamado ElncRNA1 o ERLNC1. Basados en análisis de microarreglos encontraron que TC0101441 se encuentra

localizado en el cromosoma 1, contiene 2 exones y codifica una molécula de 765-bp (Qiu J. J. *et al.*, 2019).

Además, observaron que TC0101441 se encontraba sobre expresado en tejidos CEO en comparación con tejidos normales, relacionado con un avanzado estado clínico y metástasis a nódulos linfáticos. Adicionalmente, los análisis de supervivencia revelaron que la sobreexpresión del lncRNA se relacionaba con una supervivencia general y libre de enfermedad reducida. El knockdown de TC0101441 en células SKOV3 y CAOV3 previno las habilidades migratorias e invasoras, sumado a esto, los niveles del lncRNA influyeron tanto en la transformación morfológica de las células, así como en los cambios de la expresión de marcadores TEM, incluyendo E-cadherina, N-cadherina y Snail, sugiriendo que TC0101441 induce un evento similar a la Transición Epitelio-Mesénquima en células CEO. Los modelos *in vivo* mostraron resultados similares, al observar que la metástasis tumoral fue inhibida con el knockdown de TC0101441 (Qiu J. J. *et al.*, 2019).

Ha sido reportado que los lncRNAs pueden regular la expresión de genes cercanos (Luo S. *et al.*, 2016; Engreitz J. M. *et al.*, 2016; Hu H. *et al.*, 2018).

Qiu y colaboradores, hipotetizaron que TC0101441 podría influir en la TEM del CEO y la metástasis mediante la regulación de genes adyacentes, encontrando a KiSS-1 ubicado aproximadamente 1.8 Mb secuencia debajo de TC0101441. Un descubrimiento importante fue la regulación negativa de KiSS-1 por parte de TC0101441, mientras que su sobreexpresión restauró las capacidades invasoras inhibidas por el knockdown de TC0101441. En conclusión, el estudio demuestra que TC0101441 está altamente expresado en tejidos CEO y se encuentra relacionado con un fenotipo agresivo y grave pronóstico. Encontrando, además que, este lncRNA actúa como un potente oncogén pro-migratorio e invasivo activando un programa TEM y que KiSS-1 puede estar involucrado en este proceso. Demostrando así un nuevo y potencial marcador pronóstico en cáncer de ovario (Qiu J. J. *et al.*, 2019).

9. Cáncer pancreático

El cáncer de páncreas es una neoplasia maligna intratable y es la séptima causa de muerte relacionada con cáncer en el mundo. Sin embargo, su mortalidad es mayor en países desarrollados, las razones de las grandes diferencias en la tasa de mortalidad aún no son claras, pero podría ser debido a la falta de un diagnóstico apropiado, tratamiento y categorización inadecuadas, ya que los pacientes raramente exhiben síntomas hasta una etapa bastante avanzada de la enfermedad, este tipo de cáncer permanece como una de las neoplasias malignas más letales, causando 466,003 muertes en el año 2020 (GLOBOCAN 2021).

Mientras que la tasa de supervivencia general a 5 años para todos los pacientes aún está por debajo del 20%, la resección radical del tumor seguida de quimioterapia coadyuvante puede resultar en un largo periodo de supervivencia para pacientes seleccionados con etapas tempranas de la enfermedad. Sin embargo, sólo del 8 al 16% de los pacientes representan candidatos potenciales para un tratamiento curativo mediante resección tumoral, ya que la mayoría de los pacientes inicialmente presentan un estadio tumoral no resecable avanzado al momento del diagnóstico. Además, muchos pacientes se enfrentan a una recurrencia temprana del tumor, dejándolos sin ningún beneficio (Clancy T. E. 2015; Ducreux M. *et al.*, 2015).

Resultados de estudios previos sugerían que pacientes con PDAC (adenocarcinoma pancreático ductal) con alta expresión tumoral de KiSS-1 mostraban un resultado más favorable en comparación con bajos niveles tisulares, en consecuencia, una fuerte expresión tisular de KiSS-1 se asociaba con una supervivencia prolongada, y la expresión intratumoral resultó como un marcador pronóstico para la supervivencia general (Nagai K. *et al.*, 2009).

Loosen y colaboradores, en 2019 realizaron un estudio con el objetivo de medir los niveles séricos de KiSS-1 en una cohorte de 128 pacientes con adenocarcinoma pancreático ductal (PDAC), sometidos a resección quirúrgica, así como 36 controles sanos. Demostraron que los niveles circulantes de KiSS-1 se encuentran elevados en pacientes con PDAC tanto en el momento del diagnóstico, y después de la resección del tumor (Loosen S. H. *et al.*, 2019).

Este descubrimiento está en acuerdo con los resultados de un estudio exploratorio que evaluó los niveles plasmáticos de KiSS-1 en una pequeña cohorte de pacientes con cáncer pancreático, donde sugirieron que KiSS-1 podría ser un marcador pronóstico (Katagiri F. *et al.*, 2009).

McNally y colaboradores, en 2010, mediante el uso de ratones SCID, implantados ortotópicamente con células de cáncer de páncreas, demostraron que la sobreexpresión de KiSS-1 se asoció con tumores más pequeños e impidió el desarrollo de metástasis tanto en pulmón como en hígado (McNally L. R. *et al.*, 2010).

En concordancia, un estudio realizado por Masui y colaboradores, en 2004, demostraron que KiSS-1 suprime la migración de células PANC-1 al activar ERK1, una cinasa con un conocido papel en cáncer de páncreas (Masui T. *et al.*, 2004).

Mientras que los niveles séricos tienden a disminuir en pacientes con enfermedad avanzada, en el estudio de Loosen y colaboradores, las concentraciones circulantes de KiSS-1 no reflejaban significativamente los parámetros clinicopatológicos de la enfermedad, como el tamaño del tumor, invasión en nódulos linfáticos o la presencia de metástasis a hígado. En contraste con la expresión intratumoral, los niveles séricos no se correlacionaron con el resultado de los pacientes después de la resección quirúrgica, ya que los pacientes que murieron pronto durante el seguimiento mostraron concentraciones similares preoperatorias comparadas con los supervivientes a largo plazo. Posteriormente, plantearon la hipótesis de que los niveles de KiSS-1 podrían disminuir después de la resección tumoral. Sin embargo, en el grupo de estudio, los niveles postoperatorios fueron casi idénticos a los de antes de la cirugía, sugiriendo que el tumor por sí mismo no representa la fuente más importante de KiSS-1 circulante (Loosen S. H. *et al.*, 2019).

Recientemente, se han encontrado alteraciones en los niveles de KiSS-1 en células sanguíneas mononucleares periféricas (PMBCs por sus siglas en inglés), después de la inflamación orofacial inducida por el adyuvante completo de Freund (Aczél T. *et al.*, 2018).

Cabe mencionar que Loosen y colaboradores, también encontraron una tendencia hacia una correlación positiva de los niveles de KiSS-1 y las concentraciones séricas de PCR (proteína C reactiva) como sustituto de la inflamación sistémica. Ya que la resección tumoral es la

única modalidad potencialmente curativa, los marcadores de fácil acceso, que permitan el diagnóstico de PDAC en etapas tempranas o incluso muy tempranas podría ayudar a mejorar el pronóstico de los pacientes aumentando el porcentaje de los pacientes a los que se les realizará una resección completa del tumor. Debido a que se ha mostrado que las concentraciones séricas de KiSS-1 se encuentran elevadas en pacientes con PDAC, su potencial diagnóstico sigue siendo inferior al de CA19-9, la combinación de ambos marcadores podría revelar un poder discriminatorio superior para el diagnóstico del adenocarcinoma de páncreas, sugiriendo que KiSS-1 podría implementarse en un nuevo panel diagnóstico de marcadores tumorales (Loosen S. H. *et al.*, 2019).

10. Colangiocarcinoma

El colangiocarcinoma (CCA) es un tumor maligno altamente metastásico e invasivo, originado en el epitelio de los conductos biliares intra o extrahepáticos, se ubica a cualquier nivel de la vía biliar, desde los canalículos intrahepáticos hasta la ampolla de Vater. Anatómicamente, se distinguen el colangiocarcinoma hepático (20 a 25%), el perihiliar (50 a 60%), el extrahepático distal (20 a 25%) y el multifocal (5%). El tratamiento ideal es la resección quirúrgica, desafortunadamente, la mayoría de las veces el tumor es irresecable. Los pacientes con colangiocarcinoma hiliar alcanzan en un bajo porcentaje un tratamiento con cirugía potencialmente curativa, fundamentalmente por dos motivos: por diagnóstico tardío y por infiltración neoplásica de la vasculatura del hilio hepático. Actualmente, el entendimiento y conocimiento sobre el proceso metastásico del CCA a nivel molecular es escaso y limitado. La mayoría de las líneas celulares de CCA raramente desarrollan tumores metastásicos, haciendo aún más complicado el estudio de estos eventos, razón por la cual es necesario desarrollar una línea celular de estas características que pueda ser empleada en la investigación de esta enfermedad y, al mismo tiempo ser objeto de pruebas de nuevos tratamientos, además, permitiría dilucidar las redes moleculares y las vías de señalización entre moléculas individuales y el proceso metastásico (D'Alaimo B. *et al.*, 2020).

Uthaisar y colaboradores, en el año 2016, mediante una selección *in vivo*, establecieron una sublínea celular humana de CCA, llamada K KU-213L5, la cual posee una mayor capacidad metastásica que su línea parental (K KU-213), es decir, una mayor tasa de crecimiento,

expresión de marcadores de células madre y capacidad migratoria e invasora exacerbada (Uthaisar *et al.*, 2016).

Una búsqueda en la literatura de 1985 a 2016, reveló que se habían establecido 21 líneas celulares derivadas de CCA, 3 de las cuales se establecieron a partir de pacientes tailandeses de CCA que se asumieron estar asociados con infecciones por trematodos hepáticos: HuCCA-1 (Sirisinha S. *et al.*, 1991), KKU-100 (Sripa B. *et al.*, 2005) y RMCAA-1 (Rattanasinganchan P. *et al.*, 2006).

Similar a otros tumores sólidos, el colangiocarcinoma se caracteriza por ser un cáncer altamente metastásico (Goodman Z. D. *et al.*, 2012).

El estudio realizado por Uthaisar y colaboradores, involucró la inyección de células tumorales a través de la vena de la cola de ratones y el análisis de su habilidad para formar tumores y/o colonizar sitios distantes como pulmones por vía hematológica. Este modelo generó colonización pulmonar de CCA sin llegar a otros sitios. Una dificultad del ensayo realizado fue la falta de medición de la etapa invasiva temprana y angiogénica del proceso de malignidad. Las células que poseían marcadores superficiales de células madre se enriquecieron en KKU-213L5, que contienen considerablemente más de una aparente subpoblación positiva de CD133 que las células KKU-213. Vale la pena señalar que la expresión de CD44 parecía ser menor en las células KKU-213L5 (Uthaisar *et al.*, 2016).

CD44 es una proteína pleomórfica y se ha demostrado que solo variantes específicas de CD44 promueven la tumorigénesis (Guo W. & Frenette P. S., 2014).

Estos datos apoyan la hipótesis de que la población de células madre cancerígenas puede conferir actividad metastásica a la línea KKU-213L5. La agresividad de las KKU-213L5 y KKU-213 también fue demostrada en los modelos *in vivo*. La tumorigenicidad y potencial metastásico de KKU-213L5 fue significativamente mayor que en las células parentales KKU-213, demostrado en los xenoinjertos subcutáneos y modelos de ratón con inyección en la vena de la cola con metástasis. Encontraron pocas micro metástasis en el grupo KKU-213 después de 13 días post inyección, mientras que, en el mismo período de tiempo, un mayor número de micro y macro metástasis fue encontrado en tumores pulmonares de los ratones inyectados con KKU-213L5, lo cual pudo haber sido la causa de una supervivencia

significativamente más corta. La metástasis requiere de distintos conjuntos funcionales de genes que favorecen la iniciación y progresión de la metástasis. La migración e invasión celular son eventos tempranos esenciales durante este proceso, con lo cual, se analizaron a detalle un pequeño grupo de genes, relacionados con la migración e invasión. La expresión diferencial de 77 genes seleccionados analizados entre ambas líneas celulares (KKU-213L5 y KKU-213) reveló una sobreexpresión de AGR2 (proteína 2 de gradiente anterior) y una reducción en la expresión de KiSS-1. Estos dos genes exhibieron el diferencial más alto en los niveles de expresión en las dos líneas empleadas, y nunca han sido descritos relacionados con la metástasis de CCA. Ya que las diferencias en la expresión podrían o no explicar a ciencia cierta el potencial metastásico; ambos genes fueron investigados a fondo por su asociación con tejidos metastásicos. Los niveles de expresión fueron verificados mediante inmunohistoquímica. Rara vez se expresó AGR2 en epitelio de conducto biliar normal, pero incrementó gradualmente de acuerdo con la progresión de la etapa metastásica. Estas observaciones en la expresión de AGR2 llevaron al grupo a deducir la asociación de AGR2 con la metástasis en CCA (Uthaisar *et al.*, 2016).

AGR2 pertenece a una familia de proteínas disulfuro isomerasas. Se ha demostrado que la forma secretada de AGR2 funciona en la superficie extracelular y en la matriz extracelular (Adam P. J. *et al.*, 2003; Dumartin L. *et al.*, 2011).

También se ha informado su sobreexpresión en varios tipos de cáncer, relacionándose con el aumento en la supervivencia y proliferación celular, mientras que su pérdida conduce a una disminución en la progresión del ciclo celular y muerte celular (Vanderlaag K. E. *et al.*, 2010; Park K. *et al.*, 2011; Wang Z. *et al.*, 2008).

KiSS-1 ha demostrado ser un miembro de los supresores metastásicos, el cual puede bloquear la metástasis sin prevenir el desarrollo primario del tumor, inhibe de manera efectiva la colonización de células tumorales, el último paso en la cascada metastásica. Hasta el momento del estudio de Uthaisar y colaboradores, no había reportes sobre KiSS-1 en CCA. Su papel se vio enfatizado por el hecho de que la expresión de KiSS-1 fue regulada negativamente en las células altamente metastásicas KKU-213L5, y también disminuyó en las etapas avanzadas de los pacientes CCA. Como conclusión, se podría decir que estudios más avanzados y a profundidad son necesarios para comprender los mecanismos moleculares

de la progresión de CCA, esenciales para la mejora en la prevención y aseguramiento de controles efectivos de la metástasis. KKU-213L5 es la primera línea celular de CCA con relativa alta actividad metastásica, no solo *in vitro* sino también *in vivo*. Los genes asociados a metástasis recuperados de KKU-213L5 reflejan su implicación en la metástasis de pacientes con colangiocarcinoma. Con esta línea celular establecida se podrían evaluar agentes inhibidores o promotores de genes de la metástasis para un mejor tratamiento del colangiocarcinoma (Uthaisar *et al.*, 2016).

11. Carcinoma adrenocortical

El carcinoma adrenocortical es un tipo raro y agresivo de cáncer, los tumores generalmente se diagnostican de manera incidental en un 6 a 7% de la población. La mayoría son benignos y no funcionales, clasificados como adenomas, que requieren solamente un seguimiento clínico. En contraste, los carcinomas adrenocorticales (ACC) son raros, con una incidencia de 1 a 2 casos por millón y son tumores agresivos y metastásicos (Sherlock M. *et al.*, 2020; Fassnacht M. *et al.*, 2018).

El factor de transcripción 21 (TCF21), también conocido como capsulina, epicardina y Pod1, se localiza en el cromosoma 6q23-q24. Codifica un factor de transcripción que se une al DNA como un heterodímero a través de la secuencia CANNTG de la E-box. La función normal es promover la transición mesénquima-epitelio (TME) durante el proceso de diferenciación y desarrollo (Hidai H. *et al.*, 1998; Quaggin S. E. *et al.*, 1999).

Su regulación negativa revierte la transición anterior favoreciendo la migración e invasión tumoral, como ha sido reportado en tumores colorrectales, carcinoma de células escamosas de esófago y cáncer urogenital (Dai Y. *et al.*, 2016; Chen T. *et al.*, 2017; Sun W. *et al.*, 2019).

Además, se ha encontrado que TCF21 es un predictor de supervivencia general en carcinomas adultos. La inactivación epigenética de TCF21 está asociada con la regulación de la Transición Epitelio-Mesénquima (TEM), invasión, metástasis, ciclo celular y autofagia en diferentes tumores, uno de los mecanismos más comunes en muchos tumores humanos, es el silenciamiento de la expresión de TCF21 mediado por hipermetilación, el cual todavía no había sido estudiado en tumores adrenocorticales (Jiang X. *et al.*, 2018).

Kremer y colaboradores, en 2021 realizaron un estudio donde evaluaron los efectos de la expresión de TCF21 en carcinoma adrenocortical y su relación con KiSS-1. Los análisis en la expresión de TCF21 en cultivos celulares de ACC mostraron una baja expresión del mRNA en células H295R y ACC-T36, comparadas con cultivos celulares de adenoma pediátrico (ACAPed-T7) y un grupo de células suprarrenales normales humanas, que fueron usados como referencia. Los análisis de secuenciación de metilación del promotor de TCF21 en células H295R y ACC-T36 mostraron un 70% y 58% de metilación, respectivamente, mientras que en ACAPed-T7 solo se encontró una metilación del 8%. Para confirmar la regulación de TCF21 por la metilación de su promotor; las células H295R fueron tratadas con el agente desmetilante 5-aza-2-desoxicitidina (5-aza). 100 μ M de 5-aza por 48 horas incrementaron los niveles de mRNA de la expresión relativa de TCF21, revirtiendo la condición hipermetilada del promotor. Para explorar la función biológica de TCF21 en células adrenocorticales tumorales, emplearon la transfección con pCMVMyc-Pod1 con el propósito de aumentar los niveles de expresión de TCF21 en la línea celular H295R. Lograron la sobreexpresión de TCF21 comparada con el control, y mediante ensayos en cámara Transwell evaluaron la migración e invasión, los resultados indicaron que el número de células migrantes e invasoras fue menor en la línea H295R/TCF21 que en las células control, indicando que el aumento de TCF21 tiene un efecto negativo en estas características tumorales. Por el contrario, confirmaron que TCF21 se encuentra involucrado en las habilidades invasoras de las células, cuando se logró inhibir eficientemente su expresión, provocando un aumento importante en la migración e invasión. Con el objetivo de estudiar el potencial mecanismo molecular de TCF21 en la motilidad, analizaron su efecto en la expresión de metaloproteinasas de matriz extracelular *MMP-2*, *MMP-8*, *MMP-9*, *MMP-14*, precursor de inhibidor de metaloproteinasa 1 *TIMP-1*, *KiSS-1* y *Vimentina* (VIM). Observaron un aumento importante en los niveles de expresión del mRNA y proteína de *MMP-8*, mRNA de *TIMP-1*, y del supresor de metástasis *KiSS-1* en células H295R/TCF21 comparadas con su respectivo control. En contraste, los efectores pro invasivos, *MMP-9*, mRNA y proteína, *MMP-14*, *MMP-2* y VIM mRNA fueron marcadamente regulados negativamente, aunque no observaron disminución en los niveles de proteína en VIM. Con este estudio, Kremer y colaboradores, demostraron que la restauración de la expresión de TCF21 en células ACC resultó en la reducción de la migración e invasión *in vitro*. Estos

resultados refuerzan la función supresora de tumor de TCF21 en ACC (Kremer J. L. *et al.*, 2021).

Además, la hipermetilación del promotor, con su consecuente regulación negativa, ha sido revertida mediante tratamiento con el agente 5-aza de manera dosis dependiente, sugiriendo que la metilación es un importante mecanismo del control epigenético, y puede ser revertido al menos, *in vitro*. Investigaron más a fondo el mecanismo molecular regulado por TCF21, donde se vieron involucradas las MMPs, siendo propuestas como blancos terapéuticos, en el estudio, la presencia de TCF21 en células ACC indujo el aumento de los efectores anti invasores KiSS-1, MMP-8 y TIMP-1, mientras que la expresión de las moléculas pro invasoras MMP-9, MMP-14, MMP-2 y VIM se vio reducida. Observando a KiSS-1 siendo regulado significativamente de manera positiva por TCF21 en células de ACC, así como MMP-8 y TIMP-1 (Kremer J. L. *et al.*, 2021).

Los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP) participan en el control de las actividades locales de las MMP en los tejidos. Son de tamaño pequeño (22-30 kDa), y capaces de unirse e inactivar MMPs. Cuatro TIMPs han sido identificados (TIMP-1 a TIMP4). Su sobreexpresión reduce el crecimiento tumoral (Gomez D. E. *et al.*, 1997).

La MMP-9, es una colagenasa tipo IV, producida por varias células, inhibe o estimula el proceso de degradación de matriz extracelular durante la remodelación tisular, la cual es esencial para la metástasis e invasión. La enzima MMP-9 es secretada como pro-MMP-9, la cual es una forma inactiva de la MMP-9 y es activada por otras moléculas como MMP-2 y MMP-3 (Mondal S. *et al.*, 2020).

Además, los niveles de MMP-9 y MMP-8 en suero se encuentran elevados en pacientes con tumores adrenales antes y después de la cirugía. Estos datos indican que MMP-9 podría ser útil en diferenciar los tumores suprarrenales benignos subclínicos funcionales de los tumores benignos no funcionales. Como conclusión, el estudio demostró que la restauración de la expresión de TCF21, el cual se encuentra epigenéticamente silenciado en células ACC, resulta en disminución de las capacidades migratorias e invasoras. Estos resultados mostraron que las funciones inhibitorias tumorales de TCF21 pueden actuar promoviendo a KiSS-1, revertiendo la Transición Epitelio-Mesénquima e inhibiendo las capacidades invasoras de las MMPs en carcinoma adrenocortical (Kremer J. L. *et al.*, 2021).

12. Cáncer renal

En la última década, el porcentaje de casos de cáncer de riñón en el país ha ido en aumento; al año se detectan 4 000 nuevos casos, de los cuales un 50% son detectados en etapas avanzadas provocando con ello una alta incidencia de muerte, lo que lo convierte en la 12^a causa de mortalidad con un índice de fatalidad de 0.52, es decir, el 50% de los pacientes muere a causa de este padecimiento en el mismo periodo de tiempo. El cáncer de riñón o carcinoma de células renales se encuentra entre los diez más comunes, siendo más frecuente en hombres que en mujeres, y afecta en un 90% de los casos a adultos mayores de 50 años. Es muy probable que no presente ningún tipo de síntoma en sus etapas iniciales, lo que dificulta el tratamiento y diagnóstico oportuno, reduciendo las posibilidades de vida del paciente. De acuerdo con cifras del Hospital General de México ‘Dr. Eduardo Liceaga’ hasta el 30% de los pacientes reciben diagnóstico con enfermedad metastásica. Por lo anterior, es que los especialistas llaman a poner atención a síntomas como: sangre en la orina, presencia de masas o bultos en uno de los costados, presión o dolor en la zona lumbar constante y no desaparece, pérdida de apetito o de peso sin razón conocida, anemia, entre otros, con el objetivo de recibir un diagnóstico oportuno y que permita elegir un tratamiento adecuado (Gabilondo B. *et al.*, 2016).

Aunque se desconoce la causa directa de este tipo de cáncer, la Sociedad Americana Contra el Cáncer señala como factores de riesgo asociados: la edad avanzada, el mal uso de cierto tipo de medicamentos, tabaquismo, obesidad, hipertensión arterial, enfermedad renal avanzada, el Síndrome de Von Hippel-Lindau (enfermedad causada por la mutación de un gen, descrita anteriormente en los factores de riesgo generales) (ACS 2021).

Se cree que el 98% de los casos detectados son de origen epitelial, y son referidos como carcinoma de células renales (RCC); conocido por tener una amplia variación en el comportamiento biológico y clínico, debido al alto riesgo de recurrencia, invasión y metástasis (Cho E. *et al.*, 2011; Yildiz E. *et al.*, 2008).

La resección quirúrgica es el primer tratamiento y el más efectivo de pacientes con enfermedades no invasoras. Aproximadamente el 70% de los pacientes con RCC desarrollan recurrencia después de la intervención quirúrgica y un 25-30% eventualmente desarrollarán metástasis distales (Ornellas A. A. *et al.*, 2012).

Zhang y colaboradores, en 2012, llevaron a cabo un estudio con el objetivo de investigar si el microRNA-21 (miR-21) puede regular la invasión de células renales cancerígenas por medio de la regulación a la baja de TCF21 y KiSS-1; donde propusieron que miRNA-21 podría estar sobreexpresado en muestras de RCC y, por lo tanto, su objetivo sería TCF21, el cual posteriormente inhibiría la expresión de KiSS-1. Para explorar la posible función de miR-21 en el desarrollo del carcinoma renal, se investigaron los niveles de expresión en 40 muestras de RCC y 20 de células normales de riñón (NCR), los resultados demostraron que, en contraste con las células normales, miR-21 se encontraba expresado de manera aumentada en las células cancerígenas. Mediante un ensayo de luciferasa en células Caki-1, reportaron que en el extremo 3' UTR de TCF21, co-transfectado con el vector reportero y pre-miR-21, la actividad de luciferasa estaba disminuida debido a un nivel aumentado de miR-21, sugiriendo que 3' UTR de estas células es un blanco directo. Además, los ensayos de Western blot mostraron que la expresión de TCF21 se reguló negativamente en las células transfectadas con pre-miR-21, observando un efecto contrario en las que fueron transfectadas con un inhibidor de miR-21. Para confirmar la regulación entre TCF21 y KiSS-1, las células Caki-1 se transfectaron con siRNA-TCF21; después de identificar los efectos inhibitorios de siRNA-TCF21, observaron la expresión reducida del mRNA KiSS-1 y de proteína, demostrando que el silenciamiento de TCF21 afecta directamente a KiSS-1. Posteriormente, sobreexpresaron KiSS-1 mediante transfección con el vector de expresión pCDNA3.1-KiSS-1 en las células Caki-1, y los ensayos Transwell revelaron que su sobreexpresión reducía de manera significativa la capacidad invasiva. Cabe mencionar que esta línea celular fue seleccionada ya que imita mejor las características biológicas del carcinoma renal, especialmente para el análisis de invasión. Por lo tanto, se cree que TCF21 es clave en la progresión del cáncer, debido a su relación con KiSS-1, y a pesar de ser blanco directo de algunos miRNA como miR-21 (Zhang H. *et al.*, 2012).

Shoji y colaboradores, en 2009, demostraron que el receptor KiSS-1R, se encontraba altamente expresado en células RCC y, descubrieron una excesiva formación de adhesiones focales, localizadas al final de las fibras de estrés en las células Caki-1 y ACHN, que fueron bloqueadas cuando se trataron con el inhibidor de cinasa Rho Y-27632, con lo cual, hipotetizaron que KiSS-1 tiene la capacidad de cambiar la forma de las células RCC a través de la ruta Rho-GTPasa, activando uno o varios de sus miembros mediante la regulación de

la adhesión celular y motilidad por una activación en secuencia, la cual podría ser Cdc42→Rac↔RhoA-GTPasa (Shoji S. *et al.*, 2009).

13. Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello

El carcinoma se define como el tumor maligno que se forma a partir de tejido epitelial y pertenece a un grupo de neoplasias que comparten características histológicas. Cuando se presenta en cabeza y cuello afecta diferentes regiones anatómicas, como: labios, cavidad bucal, faringe, laringe y senos paranasales. El tipo histológico más frecuente es el carcinoma de células escamosas (CCE), el cual puede ser muy agresivo debido a la capacidad de invasión, extensión a tejidos adyacentes, metástasis linfática y órganos distantes. En general, el pronóstico del CCE se realiza con base en las características clínicas e histopatológicas, las cuales son evaluadas por sistemas de estadificación (Vargas-Soto O. *et al.*, 2016).

Los principales factores asociados al desarrollo de esta patología son el tabaco, el alcohol y la presencia del virus del papiloma humano (VPH). El número de casos es mayor en hombres que en mujeres y la incidencia aumenta con la edad (mediana de edad, después de los 50-60 años) (Cárcamo M. *et al.*, 2018).

La región latinoamericana se caracteriza por una alta incidencia de CCE, sin embargo, las tasas entre países varían ampliamente. Existe una disparidad de sexo y se reporta en hombre el 72% de los casos de cáncer. En México, menos del 3% de todas las neoplasias corresponden al CCE de cabeza y cuello. En Chile, el cáncer de cavidad bucal y faringe se encuentran en el décimo séptimo lugar con una incidencia de 3.2 por cada 100 000 habitantes (Corrales-Reyes I. E. *et al.*, 2018)

Ensayos prospectivos, aleatorizados y multiinstitucionales han mostrado claramente que las estrategias quimioterapéuticas basadas en cisplatino (CDDP) son efectivas para controles locales y regionales en múltiples sitios tumorales en la cabeza y cuello, cuando se usa de forma adyuvante o concomitante con radioterapia (Cooper J. S. *et al.*, 2004; Forastiere A. A. *et al.*, 2003).

Sin embargo, los resultados de varios de estos ensayos muestran que solo el 10-20% de los pacientes se benefician del tratamiento, que puede resultar en una profunda morbilidad y mortalidad asociadas a este mismo. Además, la supervivencia sólo mejora marginalmente, lo que sugiere que la resistencia a CDDP es un componente innato del HNSCC. Se han propuesto múltiples mecanismos para la resistencia a CDDP: a) amplificación de *AKT1*; b) desregulación metabólica; c) captura celular de cisplatino inducido por glutatión; d) aumento en la exportación celular, y e) mutaciones secundarias de *BRCA2* (Kelland L. 2007; Liu L. Z. *et al.*, 2007; Hamaguchi K. *et al.*, 1993).

Datos convincentes apoyan el papel de KiSS-1 en la progresión y metástasis de varios tumores; diversos estudios han mostrado que la pérdida de su expresión está asociada con un incremento en la malignidad de cánceres como el esofágico, de vejiga, cerebral, de mama, ovárico, pancreático y melanoma (Nash K. T. & Welch D. R. 2006). Aunque estudios correlativos han mostrado una regulación negativa en los niveles de expresión del mRNA y proteína de KiSS-1 en etapas avanzadas tumorales, los mecanismos de esta habilidad anti metastásica surgen lentamente, y pueden estar relacionados en parte a efectos de supresión de angiogénesis e inducción de latencia tumoral. Los conocimientos moleculares sobre los efectos dirigidos por KiSS-1 sobre la migración e invasión pueden deberse a interacciones con la proteína quinasa C y el factor nuclear kappa-beta (NF- κ β) (Guzman S. *et al.*, 2018; Ly T. *et al.*, 2020).

Jiffar y colaboradores, en 2011, hipotetizaron que KiSS-1 participa en la sensibilidad de CDDP en carcinoma celular de cabeza y cuello. Con el objetivo de dilucidar el mecanismo biológico que sostiene la resistencia al tratamiento con cisplatino, desarrollaron un modelo basado en células resistentes a los medicamentos mediante la exposición a largo plazo de líneas celulares tumorales a dosis crecientes de CDDP durante un período de 6 meses. Mediante un modelo de ratón de HNSCC evaluaron el comportamiento biológico de las células resistentes a CDDP (CR), donde observaron un incremento en el crecimiento tumoral local, linfático y en metástasis distales. Además, con la ayuda de imágenes por tomografía identificaron una alta incidencia de metástasis tumorales en los ratones inoculados con células CR, con una marcada reducción en la apoptosis (evaluada por ensayo TUNEL) en tumores resistentes, sugiriendo un fenotipo más agresivo. Para determinar la desregulación

de la vía subyacente en el fenotipo quimio resistente, los mediadores conocidos de la resistencia a CDDP se analizaron por Western blot; demostrando que, aunque los niveles de β -tubulina permanecieron sin cambios, los niveles de las enzimas glucógeno sintasa cinasa 3 β (GSK3) y la glutatión-S-transferasa (GST- π) aumentaron en comparación con las líneas celulares parentales, mientras que los niveles de la proteína Bax disminuyeron, mostrando una asociación del fenotipo CR con mediadores previamente informados de la resistencia a CDDP (Bai F. *et al.*, 1996; Arai T. *et al.*, 2000). También observaron alteraciones en las proteínas asociadas con la Transición Epitelio-Mesénquima (Jiffar T. *et al.*, 2011).

Empleando microarreglos basados en PCR de alto rendimiento, identificaron una disminución importante en el mRNA de KiSS-1 en células resistentes a CDDP. Estos resultados se confirmaron con RT-PCR, donde también observaron una pérdida completa de KiSS-1 a nivel de proteína, aunque no se observaron diferencias significativas en los niveles de KiSS-1R. Mediante análisis de hibridación genómica comparativa identificaron que no hubo ninguna pérdida genómica significativa en 1q32; la región del genoma que codifica para KiSS-1, lo que sugiere supresión transcripcional y no genómica, explicando la pérdida de KiSS-1 en células CR. Posteriormente, inhibieron la expresión de KiSS-1 en células parentales sensibles a CDDP, lo cual produjo resistencia parcial a la quimioterapia, pero no resistencia total. Sugiriendo que la pérdida en la expresión de KiSS-1, conlleva a una resistencia parcial, proporcionando soporte al papel de KiSS-1 como mediador del fenotipo resistente a quimioterapia en carcinoma celular de cabeza y cuello (HNSCC). Aunado a los resultados anteriormente expuestos, la pérdida de KiSS-1 provocó la inhibición de PARP cuando las células fueron expuestas a CDDP, lo que reveló otro nivel de regulación de KiSS-1 en la resistencia a fármacos y apoptosis. Además, también observaron una regulación positiva en la expresión de GST- π y NF- $\kappa\beta$, con una actividad incrementada de GST- π , sugiriendo de nuevo que KiSS-1 tiene un impacto en el fenotipo resistente, y está asociado con alteraciones en la actividad de GST- π . Con la expresión de KiSS-1 disminuida en células metastásicas de HNSCC, sugirieron metástasis hematológica, lo que contribuye al desarrollo de metástasis linfática (Jiffar T. *et al.*, 2011).

Con el propósito de evaluar el objetivo directo de KiSS-1 en el fenotipo agresivo de HNSCC y resistencia a CDDP; realizaron transfección de KiSS-1 a células resistentes a CDDP (CR-

KiSS-1). El ensayo de cierre de herida reportó que la expresión de KiSS-1 inhibe la migración celular comparada con el vector control (CR-EV), sin embargo, no se abolió en su totalidad, sugiriendo que el comportamiento agresivo *in vivo* se debe en parte a la pérdida de KiSS-1. Además, con la sobreexpresión de KiSS-1 en células CR, se encontró una profunda reversión de la resistencia a CDDP en células CR-KiSS-1, en comparación con las células con el vector vacío (CR-EV), lo que sugiere una intervención directa de KiSS-1 como mediador de la resistencia a fármacos. Para complementar las investigaciones sobre el mecanismo de KiSS-1 en la modulación de la respuesta a quimio resistencia, evaluaron la función de GST- π , conocido mediador de la inactivación de CDDP en cánceres. Las células resistentes transfectadas con KiSS-1, mostraron una relativa regulación a la baja de GST- π , también mostraron altos niveles de PARP escindida, marcador de la inducción de apoptosis, apoyando aún más la idea de KiSS-1 teniendo un impacto en el fenotipo CDDP resistente, asociado con niveles y funcionamiento alterados de GST- π . Los efectos de KiSS-1 también fueron evaluados en modelos *in vivo*, inoculando células resistentes (CR) y las que contenían el vector KiSS-1 (CR-KiSS-1) en la lengua de ratones desnudos, lo que reveló una mejora importante en la viabilidad del ratón con el vector CR-KiSS-1, además de una disminución en la proliferación celular, demostrado por los bajos niveles de Ki67, en cuanto a experimentos en agar suave, el crecimiento independiente de anclaje se suprimió en las células transfectadas con KiSS-1, sugiriéndose la idea de tomar a KiSS-1 como un importante regulador del fenotipo resistente a fármacos en HNSCC (Jiffar T. *et al.*, 2011).

14. Carcinoma de células escamosas de esófago.

También conocido como cáncer esofágico (CE), es la octava neoplasia maligna más frecuente, con una supervivencia a cinco años < 20%. Cada año se reportan 400 000 nuevos casos de CE en el mundo y los subtipos escamoso y adenocarcinoma son los más frecuentes (GLOBOCAN 2020). Se origina en la capa más interna (mucosa) y crece hacia afuera (a través de la submucosa y la capa muscular). El esófago está normalmente cubierto con células escamosas; a la enfermedad que se origina en estas se le llama carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), la cual puede ocurrir en cualquier lugar a lo largo del esófago, pero es más común en la porción del esófago de la región del cuello y en los dos tercios

superiores de la cavidad torácica (Cossío G. 2010). El desarrollo de nuevas técnicas de endoscopia que incluyen la cromoendoscopia con Lugol o por imagen de banda estrecha, magnificación endoscópica, microscopia confocal, endoscopia de alta resolución y espectroscopia han incrementado la sensibilidad y especificidad en la detección de este tipo de neoplasia en estadios temprano, siendo esto trascendente, ya que, con un diagnóstico temprano, su pronóstico mejora con tasas de supervivencia a los 5 años hasta de un 95%. Los síntomas son disfagia, pérdida de peso y odinofagia (dolor en la faringe posterior que se produce con la deglución o sin ella). Con la resección quirúrgica, las tasas de supervivencia a cinco años son >95% en etapa clínica, 0.50% a 80% en la etapa I, 10 a 30% en la etapa II y 10 a 15% en la etapa III. (Arantes V. *et al.*, 2107).

Ikeguchi y colaboradores, en 2004, evaluaron los niveles de expresión de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R, en tumores de ESCC y tejidos no cancerosos de 71 pacientes. Donde la pérdida de KiSS-1 se detectó en 27 casos (38%), mientras que la expresión del receptor era ausente en 44 casos (61%). Además, la pérdida de ambos, KiSS-1 y KiSS-1R se reportó en 16 casos, sin embargo, esto no se correlacionó con la profundidad de invasión tumoral o invasión linfática. Por otra parte, la preservación en la expresión de ambos se encontró en 18 casos (25%), estos si se relacionaron con una baja incidencia de metástasis en nódulos linfáticos. Incluso en cánceres T₁ (invaden lámina propia o submucosa), 20% de casos mostraron metástasis en nódulos linfáticos. Una comparación entre 3 grupos sobre la supervivencia específica de la enfermedad a 5 años, demostró que el grupo A, comprendido de 17 pacientes con expresión de KiSS-1 y KiSS-1R tenían una probabilidad de supervivencia del 68%; mientras que el grupo B, de 34 pacientes con pérdida en al menos un componente del sistema KiSS-1/KiSS-1R la supervivencia se reducía a un 31% y finalmente el grupo C, donde los 14 pacientes tenían pérdida de ambos componentes moleculares, la supervivencia no tuvo cambios significativos respecto al grupo anterior. La profundidad en la invasión y la metástasis a nódulos linfáticos se detectaron como marcador pronóstico (Ikeguchi M. *et al.*, 2004).

Además, Ikeguchi y colaboradores, encontraron que los niveles de expresión promedio del mRNA de KiSS-1 fueron 4 veces mayor que los del receptor KiSS-1R en epitelio normal y carcinoma de células escamosas de esófago. Adicionalmente, observaron que la pérdida en

la expresión de KiSS-1 o KiSS-1R en los tumores se asoció con la alta incidencia de metástasis a nódulos linfáticos y un pronóstico poco favorable para el paciente. Por el contrario, la expresión preservada de ambos componentes (KiSS-1/KiSS-1R), suprime la metástasis linfática independientemente de la profundidad de la invasión tumoral, sugiriendo de manera relevante que la expresión de KiSS-1 y su receptor son esenciales para la inhibición de la metástasis tumoral, y finalmente el grupo investigador concluyó que la pérdida de la expresión de alguno de estos componentes moleculares podría ser utilizada como marcador pronóstico y proveer de información bastante útil sobre la existencia o no de metástasis a nódulos linfáticos y, por lo tanto, un mejor resultado en el tratamiento de los pacientes (Ikeguchi M. *et al.*, 2004).

15. Carcinoma nasofaríngeo

Es un tipo de cáncer que se origina del epitelio nasofaríngeo, el cual es un tumor maligno común de cabeza y cuello, contabilizando para el 78% de los cánceres de cabeza y cuello (Raab-Traub N. 2015). Afecta aproximadamente del 0.025 al 0.05% de la población mundial, y la incidencia más alta se encuentra en China meridional y el sureste de Asia (Yoshizaki T. *et al.*, 2012). Basado en sus características, existen 3 tipos de carcinoma nasofaríngeo (NPC) reconocidos por la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS): carcinoma de células escamosas, carcinoma de células diferenciadas y carcinoma indiferenciado. En general, el carcinoma nasofaríngeo es difícil de detectar en etapas tempranas, quizás debido a que la nasofaringe no es fácil de examinar, y los síntomas del NPC son similares a los de otras enfermedades. En resumen, es difícilmente detectable, el grado de malignidad es alto, y la metástasis y recurrencia son propensas a ocurrir (Chen W. *et al.*, 2015). Actualmente, los principales medios de tratamiento clínico son la cirugía combinada con radioterapia y quimioterapia. Entre estos, la quimioterapia basada en platino es común, no obstante, una cierta porción de pacientes en etapas avanzadas no son candidatos ideales para el tratamiento (Caponigro F. *et al.*, 2010; Su S. *et al.*, 2011).

El carcinoma nasofaríngeo comienza en las células escamosas que revisten la nasofaringe, se han considerado algunos factores causales de la enfermedad como el virus de Epstein-Barr, susceptibilidad genética, consumo de nitrosaminas y tabaquismo. Un puñado de factores

genéticos involucrados en el desarrollo de NPC, incluidos los genes HLA clase 1 relacionados con el sistema inmune, proteína tumoral p53, gen de reparación de ADN RAD51L1, y vía de señalización SOX2 (Tang J. *et al.*, 2018; Cohen J. I. *et al.*, 2011; Hildesheim A. *et al.*, 2012).

Li y colaboradores, en 2022 realizaron un estudio con el objetivo de investigar los efectos de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R en tejidos de carcinoma de células escamosas. En un grupo de 20 muestras tisulares de pacientes realizaron ensayos de proliferación, análisis de ciclo celular y apoptosis, tinción inmunohistoquímica, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real y Western blot. En los resultados de RT-PCR observaron que los niveles de expresión de mRNA de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R se encontraban disminuidos en carcinoma de células pobremente diferenciado, comparados con los niveles en carcinoma de células bien diferenciadas, con un fenotipo un poco menos agresivo. De manera similar, los niveles de proteína también se encontraban expresados en bajas cantidades, sugiriendo que los niveles de expresión de KiSS-1 y KiSS-1R se encuentran asociados positivamente con la diferenciación de tejidos humanos de carcinoma nasofaríngeo. Para evaluar el papel que juegan KiSS-1/KiSS-1R en la proliferación celular; mediante transfección con vectores se generaron las líneas celulares 5-8F-KiSS-1 y 5-8F-1R, que expresaron de manera estable solo KiSS-1 o KiSS-1R. Con el incremento en los niveles de KiSS-1, la tasa de proliferación celular disminuyó de manera importante, detectado por medio de EdU (5-etinil-2'-desoxiuridina) y ensayo MTT. Además, KiSS-1 indujo arresto del ciclo celular en fase G1, acompañado de un número reducido de células en fase S. La sobreexpresión de KiSS-1 promovió la apoptosis en ambas líneas celulares generadas. Apoyando la propuesta del efecto anti metastásico de KiSS-1 (Li T. *et al.*, 2022).

Estudios previos han demostrado que LKB1 (gen supresor tumoral) fosforila y activa AMPK (Shaw R. J. *et al.*, 2004; Hawley S. A. *et al.*, 2003). Es una vía de señalización que juega un papel importante en la regulación negativa del ciclo celular y metabolismo de células cancerígenas, además, también puede ser activada por la proteína cinasa 2 dependiente de calcio calmodulina (CaMKK). (Li N. *et al.*, 2015).

Al hacer comparaciones por RT-PCR entre las líneas celulares 5-8F-células vehículo, 5-8F-KiSS-1, 5-8F-1R, 5-8F-1R-KiSS-1, encontraron que, el mRNA de LKB1 y AMPK α 1 fue

sobreexpresado en células 5-8F-KiSS-1 y 5-8F-1R-KiSS-1, mientras que en CaMKK1 observaron el efecto contrario. Los análisis de proteínas por Western blot mostraron niveles elevados en la expresión de LKB1, así como de su fosforilación y AMPK α , en células 5-8F-KiSS-1 y 5-8F-1R-KiSS-1, pero no en la expresión de CaMKK2. Para investigar más a fondo los efectos de KiSS-1, llevaron a cabo experimentos *in vivo*; mediante la inoculación de células 5-8F infectadas con lentivirus que sobreexpresaban KiSS-1 (OE-KiSS-1), en la región dorsal del cuello de ratones BALB/C desnudos. Después de 4 semanas, observaron que en estos ratones se formaron tumores de menor tamaño y peso reducido en comparación con los del grupo control, además, la tinción inmunohistoquímica demostró que la sobreexpresión de KiSS-1 redujo de manera importante la proliferación de las células NPC (Li T. *et al.*, 2022).

Li y colaboradores, en 2017, demostraron que KiSS-1 suprime la metástasis del cáncer nasofaríngeo por medio de la activación de la vía ERK1/2. En dicho estudio, por medio de análisis en RT-PCR y Western blot encontraron una mayor expresión de KiSS-1 y KiSS-1R en células SUNE-1-6-10B que son menos metastásicas en comparación con el subtipo SUNE-1-58F (altamente metastásicas). Sugiriendo que la metástasis del carcinoma nasofaríngeo está negativamente relacionada con la expresión de KiSS-1 y KiSS-1R. Además, la invasión y migración de las células malignas también fue suprimida de manera significativa después de la sobreexpresión de KiSS-1 y KiSS-1R separados y de manera conjunta. Los análisis de Western blot revelaron que la fosforilación de FAK se incrementó de manera importante, mientras que el efecto contrario se vio en la expresión de EZR, esto después de la sobreexpresión de KiSS-1 y KiSS-1R. Estudios adicionales de fosforilación demostraron que la vía ERK1/2 se encontraba fosforilada, y su inhibición revierte los cambios en la expresión de EZR y la fosforilación de FAK causadas por la sobreexpresión de KiSS-1 (Li T. *et al.*, 2017).

Li y sus colaboradores, en 2022, demostraron mediante inmunohistoquímica que la expresión KiSS-1 y KiSS-1R estaba disminuida en tejidos de carcinoma de células escamosas y estaba altamente expresada en tejidos de carcinoma de células escamosas no queratinizante. Al mismo tiempo, los niveles de expresión de KiSS-1 y KiSS-1R se correlacionaban de manera positiva con el grado de diferenciación en líneas celulares de carcinoma nasofaríngeo y negativamente con la capacidad proliferativa de las células cancerígenas. Adicionalmente, la

sobreexpresión de ambos KiSS-1/KiSS-1R en células 5-8F y la de KiSS-1 solo, causaron una capacidad proliferativa menor, sin embargo, las células que sólo expresaban KiSS-1R no tuvieron este impacto, sugiriendo que KiSS-1 podría actuar a través de otro receptor o vía de señalización en cáncer nasofaríngeo (Li T. *et al.*, 2022).

Otro dato importante es el aumento en la fosforilación de LKB1 y la expresión de AMPK α , en células 5-8F-KiSS-1 y 5-8F-1R-KiSS-1, relacionado con estudios previos donde se ha reportado que LKB1/AMPK inhiben la iniciación y progresión tumoral por medio del arresto del ciclo celular en la fase G1 y promoviendo la apoptosis celular (Liang X. *et al.*, 2014; Luo L. *et al.*, 2013).

En conjunto, estos resultados sugieren una participación de la vía LKB1/AMPK activada en la proliferación del carcinoma nasofaríngeo, la cual puede ser desencadenada por la sobreexpresión de KiSS-1/KiSS-1R (Li T. *et al.*, 2022).

16. Carcinoma hepatocelular

El carcinoma hepatocelular (HCC) es la neoplasia primaria de hígado más frecuente y unas de las causas de muerte más común en los pacientes afectados con cirrosis hepática, en 2020 representó la tercera causa de muerte por cáncer. Su distribución mundial es muy heterogénea y está estrechamente relacionada con la prevalencia variable de los diferentes factores de riesgo asociados al desarrollo de esta enfermedad (Reig M. *et al.*, 2021).

Son varios los factores que contribuyen a que sea considerado como una de las principales enfermedades malignas; entre estos se encuentra su alta incidencia en muchos de los países más poblados en el mundo, su curso muchas veces fulminante, pobre respuesta al tratamiento de primera línea, alta tasa de recurrencia tras resección y trasplante hepático, y por último su grave pronóstico (Kew M. C. 2002). El factor pronóstico más importante y fiable es la aparición del trombo tumoral en la vena porta (PVTT) (Giannelli G. *et al.*, 2002).

Durante la última década, el trasplante hepático ortotópico se ha convertido en el tratamiento óptimo para un subgrupo de pacientes con tumores más pequeños que resultan en menos muertes debido a la recurrencia. Un pequeño número de estudios sobre la expresión de KiSS-

1 se encuentran disponibles en la literatura sobre el trombo causado por la invasión de HCC a la vena porta como el factor pronóstico más importante del trasplante (Cisneros-Garza *et al.*, 2021).

Hou y colaboradores, en 2007, reportaron una correlación negativa entre la expresión de KiSS-1 y MMP-9 en la formación de PVTT, analizando 50 especímenes con HCC (31 con PVTT y 19 sin PVTT), la expresión de KiSS-1 era más reducida en los positivos a PVTT, comparadas con los grupos control y los que no presentaban PVTT, sugiriendo que KiSS-1 podría prevenir la formación del trombo regulando de manera negativa a MMP-9, estos resultados están en acuerdo con los encontrados por el grupo de Shengbing y colaboradores, en 2009, quienes por medio de análisis multivariado (inmunohistoquímica, evaluación microscópica de la expresión de KiSS-1 y MMP-9) demostraron que la pérdida de la expresión de KiSS-1 se asociaba con metástasis intrahepática, proponiendo que KiSS-1 podría suprimir la metástasis regulando la vía de MMP-9 (Hou Y. K. *et al.*, 2007; Shengbing Z. *et al.*, 2009).

Sin embargo, los resultados de ambos estudios entran en conflicto con otros dos, realizados por Ikeguchi y colaboradores, en 2003 y Schmid y colaboradores, en 2007; en el primero reportaron mediante qRT-PCR que la sobreexpresión de KiSS-1 y su receptor KiSS-1R se correlacionaban con la progresión tumoral, ya que entre 60 muestras de pacientes con HCC, 8 de pacientes sin HCC o cirrosis (4 lesionados por accidente de tráfico, 2 hemangiomas y 2 con metástasis a hígado de carcinoma colorrectal), incluso aunque el nivel promedio de KiSS-1 no cambió entre muestras de hígado normales, cirróticos no cancerosos y carcinomas, un nivel significativamente alto de mRNA KiSS-1 se detectó en 13 carcinomas. Además, los niveles de porcentaje de expresión positiva de mRNA KiSS-1R incrementaron de 12.5% en hígado normal y 26.7% en no canceroso cirrótico, a 48.3% en carcinomas. Todos los tumores con sobreexpresión de KiSS-1 y KiSS-1R se encontraban en etapas avanzadas. A pesar de que la composición celular de HCC, tejidos circundantes no cancerosos y tejidos hepáticos normales no es homogénea, los resultados indicaron que KiSS-1 y KiSS-1R no se correlacionaron con supresión de metástasis, sino al contrario con la progresión tumoral (Ikeguchi M. *et al.*, 2003).

Esto puede ser explicado por resultados de Yamamoto *et al.*, (2003), quienes reportaron que los niveles de expresión de GPR49 en HCC fueron significativamente más altos que en hígados no cancerosos. Además, el grupo de Yamamoto (2003), encontró que mutaciones en B-Catenina inducían un aumento en la expresión de GPR49 en tejidos HCC (Yamamoto Y. *et al.*, 2003).

Los GPRCs reciben muchas señales (neuronales u hormonales), y regulan mensajeros secundarios intracelulares, induciendo una variedad de funciones. Algunos tipos de GPRCs regulan la inhibición del crecimiento celular. Por otra parte, se ha reportado que otros tipos de GPRCs inducen el crecimiento celular comportándose como oncogenes (Zohn I. E. *et al.*, 2000). Ringel y colaboradores, en 2002, reportaron este comportamiento de KiSS-1r en cáncer de tiroides comparado con tejidos normales, activando la vía de crecimiento celular, por lo tanto, podría especularse que una sobreexpresión en HCC favorecería la progresión del cáncer (Ringel M. D. *et al.*, 2002).

Sanchez-Carbayo y colaboradores, en 2003, y Shirasaki y colaboradores, en 2001, reportaron la pérdida de KiSS-1 en cáncer de vejiga y melanoma respectivamente, sin embargo, Ikeguchi y colaboradores, detectaron la expresión de KiSS-1 elevada 10 veces más en carcinomas avanzados, indicando que KiSS-1 no se encuentra suprimido, sino sobreexpresado, de acuerdo con la progresión de HCC (Sanchez-Carbayo, M *et al.*, 2003; Shirasaki F. *et al.*, 2001; Ikeguchi M. *et al.*, 2003).

Es bien sabido que el balance hormonal se encuentra alterado en pacientes con cirrosis y, muchos pacientes se encuentran en un estado hiperestrogénico. De esta manera, los hepatocitos de pacientes con HCC se encontrarían expuestos a un ambiente rico en estrógenos, regulando de manera positiva la expresión del mRNA KiSS-1 (De Maria N. *et al.*, 2002; Ikeguchi M- *et al.*, 2003).

Schmid y colaboradores, en 2007, fueron el primer grupo en investigar la expresión de KiSS-1 y su receptor a nivel de proteína por inmunohistoquímica, donde observaron una fuerte expresión de ambos en muestras de HCC (142 muestras de pacientes), las cuales tenían un pronóstico grave; utilizando un punto de corte de 50%, detectaron inmunoreactividad positiva de KiSS-1 y KiSS-1R en 6 (4%) y 11 (8%), mientras que en tejidos sanos no se detectó una tinción intensa, KiSS-1R se correlacionó con el grado y estadio del tumor.

Sin embargo, es posible que las diferencias entre el estudio de Ikeguchi y colaboradores, de 2003, y el de Schmid y colaboradores, de 2007, se debieran a la variante investigada. Estos últimos eligieron el producto escindido mayor: Kisspeptina-54 (Kp-54) (Schmid K. *et al.*, 2007).

En este contexto Kp-54 demuestra una mayor estabilidad, en contraste con los péptidos más pequeños (Kp-14 y Kp-13), que exhiben una actividad de unión al receptor más fuerte (Muir A. I. *et al.*, 2001).

Por medio de análisis multivariado, demostraron que la intensidad en la expresión de KiSS-1 en HCC se asoció con un pronóstico poco favorable, es decir, recurrencia local de HCC, seguido de metástasis distal y a nódulos linfáticos. También concluyeron que los pacientes con HCC sufren de cirrosis, por lo tanto, están propensos a un estado hiperestrogénico (Schmid K. *et al.*, 2007).

El hecho de que el sistema KiSS-1/KiSS-1R en HCC pueda estar influenciado por un desorden hormonal se apoya en los resultados de Muir y colaboradores, de 2001, y Horikoshi y colaboradores, en 2003, quienes reportaron que los niveles plasmáticos de KiSS-1 eran 10 000 veces más altos en mujeres embarazadas que en no embarazadas (Muir A. I. *et al.*, 2001; Horikoshi Y. *et al.*, 2003).

De manera interesante, también se observa una asociación entre KiSS-1 y la progresión del cáncer de mama. Se sabe que uno de los tratamientos sistemáticos más importantes en el manejo del cáncer de mama, es el bloqueo del receptor a estrógeno; contrariamente a lo que se espera, la terapia anti estrogénica no prolonga la supervivencia de pacientes con HCC inoperable, además de tener un creciente impacto negativo con dosis aumentadas (Chow P. K. *et al.*, 2002).

Por lo tanto, KiSS-1 puede ser utilizado como un factor pronóstico independiente para la supervivencia general y libre de enfermedad, así como marcador molecular para la evaluación del potencial maligno del carcinoma hepatocelular (Schmid K. *et al.*, 2007).

17. Melanoma

De acuerdo con la Sociedad Americana Contra el Cáncer, el melanoma es el tipo de cáncer de piel que se origina cuando los melanocitos comienzan a crecer fuera de control. De acuerdo con datos del GLOBOCAN, México registró en el 2018, más de 3 mil nuevos casos en todo el país, y más de 700 muertes por esta causa.

Existen múltiples factores que aumentan el riesgo de manifestar este tipo de cáncer cutáneo; entre los cuales destacan:

- La exposición prolongada a rayos ultravioleta (UV) es el factor de riesgo principal para la mayoría de los melanomas. La luz solar es la fuente principal de la radiación ultravioleta, las cámaras de bronceado también son fuente de este tipo de radiación.
- Las personas de raza blanca con cabello rubio o pelirrojo que tienen ojos azules o verdes, piel blanca, que se queman o llenan de pecas con facilidad, presentan un mayor riesgo.
- Tener muchos lunares: la mayoría de los lunares nunca causará ningún problema, aunque una persona que tiene muchos es más propensa a padecer melanoma.
- Contar con antecedentes familiares de melanoma, el riesgo de padecer melanoma es mayor si uno o más familiares de primer grado (madre, padre, hermano/a, hijo/a) han sido diagnosticados con melanoma.

Es importante señalar que el tipo más frecuente en la población mexicana es el denominado lentiginoso acral. Este melanoma no tiene relación con la exposición solar, ya que habitualmente se presenta en la palma de las manos, de los pies o debajo de las uñas. La cirugía es la opción principal de tratamiento para la mayoría de pacientes, y generalmente cura los melanomas en etapa inicial. La quimioterapia adyuvante puede ser utilizada para tratar la enfermedad avanzada después de intentar otros tratamientos, pero no se emplea con frecuencia como tratamiento inicial, ya que nuevas formas de inmunoterapia y medicamentos dirigidos son generalmente más eficaces. Algunos estudios indican que los melanomas que se originan en estas áreas son diferentes a los que comienzan en el rostro, cuello y brazos, donde la exposición al sol es más frecuente (Rodríguez L. *et al.*, 2014).

La regla ‘ABCDE’ describe las características del melanoma en una etapa inicial:

- A de asimetría: la mitad del lunar no es igual a la otra.
- B de Borde: son irregulares, desiguales, dentados o poco definidos.
- C de Color: no es uniforme, y pudiera incluir sombras diferentes de color marrón o negras, algunas veces manchas rosadas, rojas, o blancas.
- D de Diámetro: el lunar mide más de 6 milímetros de ancho (aproximadamente más que el tamaño de una goma de borrar de lápiz), y su crecimiento es en cierta medida acelerado.
- E de Evolución: el tamaño, la forma o el color presentan un cambio constante.

Por su forma, el melanoma lentiginoso acral parece una lenteja negra (aunque puede también presentarse con otros cambios de tonalidad en la pigmentación), aparece generalmente como una mancha, a veces puede confundirse con verrugas, y puede presentar ulceración e inflamación alrededor del tejido. Es el tipo más agresivo del cáncer; aunque representa una minoría de los tumores dermatológicos, es causante de la mayoría de las muertes por éstos. Cinco años después de ser diagnosticado, sólo sobreviven aproximadamente el 45% de los pacientes mexicanos.

El último estudio sobre el efecto de KiSS-1 fue realizado en 2021 por Alkafaji y colaboradores, involucrando un microRNA llamado Let-7i. Los microRNAs (miRNAs) son moléculas pequeñas de RNA monocatenario, no codificantes, que intervienen en la regulación de diversos procesos biológicos al unirse e inhibir los genes diana principalmente a través de la regulación postraduccional o expresión génica (Alkafaji *et al.*, 2021).

Ha sido demostrado que los miRNAs están involucrados en la metástasis del melanoma, la supervivencia y proliferación, además, se ha revelado que los miRNA interactúan con vías reguladoras importantes en el desarrollo y progresión del melanoma (Howell P. M. *et al.*, 2010; Mumford *et al.*, 2018; Bonazzi *et al.*, 2012; Segura *et al.*, 2012).

Estudios previos han mostrado que Let-7i se encuentra regulado negativamente en varios tipos de cáncer, incluyendo de cuello uterino, pulmón, hígado, próstata, estómago y melanoma, resultando en la iniciación y progresión del cáncer. Ya que participa en los procesos de proliferación, migración y diferenciación, a parte de su papel como diagnóstico,

pronóstico, y terapéutico al involucrarse en la supervivencia de los pacientes (Satzger *et al.*, 2010; Chirshev *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2015).

El estudio de Alkafaji y colaboradores, se enfocó en la investigación de una posible correlación en melanoma. Por la relación entre Let-7i con varios genes diana, incluido MMP-9, C-Myc y PTEN, el estudio se centró además en KiSS-1, con la intención de determinar su expresión en melanoma, tratando de dilucidar los efectos de la re expresión de Let-7i en la migración, proliferación y apoptosis. Para estos propósitos seleccionaron la línea celular SK-MEL-3, obtuvieron 50 tejidos cancerosos y adyacentes de pacientes con melanoma del Hospital Imam Reza en Tabriz, Irán. Mediante qRT-PCR observaron que los niveles de KiSS-1 y Let-7i se encontraban disminuidos en tejidos de melanoma, comparados con tejidos marginales no tumorales. Además, la transfección con Let-7i sobreexpresó sus niveles de manera dosis dependiente, siendo considerada la dosis óptima 10 nmol para los experimentos posteriores. Después de esta restauración de Let-7i, los resultados de PCR en tiempo real y Western blot, demostraron que puede reducir la expresión de genes oncogénicos a nivel de proteína y mRNA, incluyendo c-Myc y MMP-9, mientras que su reemplazo condujo al incremento tanto de mRNA y proteína de genes supresores de tumores, como PTEN y KiSS-1. Los ensayos de MTT revelaron que Let-7i reduce la viabilidad de las células SK-MEL-3 en comparación con el grupo control. En conjunto con estos resultados, la gráfica de puntos de citometría de flujo demostró que Let-7i induce apoptosis, comparado con el grupo control. Para asegurar que Let-7i está asociado con KiSS-1, plantearon la hipótesis de que la inhibición de KiSS-1 podría aumentar la proliferación celular, por lo tanto, transfectaron siRNA en las células de melanoma, con y sin mímicos de Let-7i. Los resultados de Western blot demostraron que la regulación a la baja de KiSS-1 llevó a un incremento en la proliferación, mientras que la transfección simultánea de Let-7i y el siRNA atenuaron la proliferación inducida por la inhibición de KiSS-1. Sugiriendo que KiSS-1, participa en la patogénesis del melanoma reduciendo la proliferación y Let-7i también suprime la proliferación celular al afectar la expresión de KiSS-1 (Alkafaji *et al.*, 2021).

Por otra parte, evaluaron los efectos de la inhibición de KiSS-1 sobre la migración mediante ensayo de cierre de herida. Corroborando que, en efecto, la ausencia de KiSS-1 incrementa la migración celular, de manera similar a la proliferación, con el silenciamiento de KiSS-1 y

la transfección de Let-7i atenuó el efecto migratorio. Además, demostraron que Let-7i puede reducir drásticamente la capacidad migratoria, y la transfección simultánea de Let-7i en combinación con el inhibidor de KiSS-1 disminuye la migración. Sugiriendo que KiSS-1 también participa reduciendo la migración y Let-7i suprimiéndola a través del incremento en la expresión de KiSS-1 si se encuentra disminuido (Alkafaji *et al.*, 2021).

Serguienko y colaboradores, en 2015, también demostraron que la restauración de Let-7i reduce el potencial metastásico de células de melanoma WM239, esta restauración ha sido reportada como involucrada en la reducción de las capacidades proliferativas de varios tipos de cáncer (Serguienko A. *et al.*, 2015).

Considerando el papel de Let-7i en la regulación de genes involucrados en la carcinogénesis de melanoma, seleccionaron MMP-9, c-Myc y PTEN de la base de datos de predicción de dianas de microRNA (mirdb.org), o de estudios previos. PTEN, un supresor tumoral fundamental ejerce su papel a través de la modulación de la vía de señalización independiente de PI3K por medio de la regulación de funciones biológicas, como la proliferación celular, metabolismo, metástasis y supervivencia, conduciendo a la supresión de la iniciación del cáncer o su progresión). Se ha visto en un amplio espectro de cánceres que PTEN está regulado a la baja, lo que conduce a la progresión del cáncer (Sansal I. *et al.*, 2004; Luongo F. *et al.*, 2019; Chen C. *et al.*, 2018).

Además, se ha demostrado que c-Myc (como blanco oncogénico) está sobreexpresado en varios tipos de cáncer, su regulación positiva desempeña una función supresora de reguladores del crecimiento celular, lo que provoca una proliferación elevada y desmedida (Chen B. *et al.*, 2014; Reyes-González J. M. *et al.*, 2015; Miller D. M. *et al.*, 2012).

La MMP-9 es una de las más estudiadas y bien documentadas, involucrada en varios procesos biológicos, pero más importante en la invasión tumoral a través de la degradación de la matriz extracelular. Se ha identificado primero a Let-7i participando en la modulación de diferenciación de tejido adiposo de células madre, a través de la señalización de MMP-9. En concordancia, Alfajaki y colaboradores, demostraron que Let-7i regula la migración celular directamente a través de MMP-9 *in vitro* (Alkafaji *et al.*, 2021; Gajos-Michniewicz A. *et al.*, 2019; Serguienko A. *et al.*, 2015).

Similar a las declaraciones de los autores, Let-7i también reduce la supervivencia del cáncer de pulmón regulando varios genes, de los cuales, uno era c-Myc. KiSS-1, al ser descubierto por primera vez como un supresor del potencial metastásico en melanoma, se buscó una asociación como gen diana de Let-7i. Resultando en que la restauración de Let-7i puede aumentar la expresión de KiSS-1, tanto a nivel de mRNA como de proteína, lo que conduce a una reducción de la proliferación y metástasis celular. Por lo tanto, se concluyeron que los resultados del estudio especificaron la participación de Let-7i como supresor tumoral en la carcinogénesis del melanoma. En este sentido, su restauración puede disminuir las capacidades metastásicas y proliferativas de células SK-MEL-3 de melanoma, mientras induce apoptosis. Además, puede regular genes importantes, de los cuales, el más significativo resulta ser KiSS-1, ya que al estar expresado en bajos niveles, Let-7i puede regularlo de manera positiva, y en combinación potenciar su efecto anti tumoral (Alkafaji *et al.*, 2021).

18. Mesotelioma

El mesotelioma pleural maligno (MPM) se considera como una patología rara y muy agresiva. Se trata de un tumor maligno de la pleura. MPM surge a menudo de las células mesoteliales circundantes a la pleura, peritoneo y ocasionalmente, pericardio. Ocurre entre los 50 y 70 años de edad, siendo más frecuente en varones, con una relación hombre/mujer 5:1 y su pronóstico es sombrío y fatal a corto plazo (Boutin C. *et al.*, 1998; Cugell D. W. *et al.*, 2004; Fuhrer G. *et al.*, 2011). Su periodo de latencia, es decir el tiempo entre la exposición a las fibras naturales de asbesto y el desarrollo del tumor, ocurre en un lapso que va de los 15 a 40 años, lo que complica establecer el lugar y el momento de exposición (Mossman *et al.*, 2013).

Al no encontrarse prohibido el uso de asbesto en México, se espera que la incidencia siga en aumento y que el número de casos se prolongue (Gopar-Nieto *et al.*, 2016). El principal factor de riesgo para desarrollar MPM es la exposición a cualquier fibra de asbesto, un grupo de minerales que se da naturalmente en forma de conjunto de fibras. Están hechas principalmente de silicio y oxígeno, aunque también contienen otros elementos, existen dos tipos principales:

- **Crisotilo:** conocido también como asbesto blanco, es el tipo más común en las aplicaciones industriales. Al observarse con un microscopio, las fibras de crisotilo se encuentran enrolladas entre sí en un espiral, razón por la cual a esta forma también se le conoce como asbesto serpentina o de fibras rizadas.
- **Anfíbolos:** estas fibras de asbesto se encuentran en forma de aguja recta. Existen varios tipos de fibras anfíbolos, como amosita (asbesto marrón o café), crocidolita (asbesto azul), tremolita, actinolita y antofilita.

Ambos tipos de asbesto han sido asociados con el cáncer. El MPM fue descrito por primera vez en 1870 por E. Wagner, sin embargo, fue hasta 1931 cuando Klemper y Rabin describieron las características y denominaron mesotelioma a lo que anteriormente se conocía como tumor coloide (Ribak J. *et al.*, 1988). Por otra parte, Wagner *et al.*, reportaron en 1960 la primera serie de casos de MPM en Sudáfrica, en la cual se reportaron 33 personas con esta neoplasia, dando así los primeros indicios acerca de la asociación entre el asbesto y esta enfermedad (Ray M. & Kindler H. L. 2003). Posteriormente, entre 1972 y 1977 todos los tipos de asbestos fueron declarados como carcinógenos demostrados en humanos, tanto por la Environmental Protection Agency (EPA) de los Estados Unidos, como por la International Agency for Research on Cancer (IARC) de la Organización Mundial de la Salud (IARC 1977, IARC 1987). En el contexto mundial, gracias al movimiento de los trabajadores y de los habitantes de la región de Casale Monferrato, Italia, pudieron lograrse reformas para la prohibición del asbesto en dicho país y en toda Europa. Ante el cierre de las empresas en lugares como Canadá y Europa, las compañías han migrado a países en vías de desarrollo para poder continuar con la producción y manufactura sin restricción alguna; uno de estos países es México (Aguilar-Madrid G. *et al.*, 2003; Aguilar-Madrid G. *et al.*, 2005).

En el panorama mundial de esta enfermedad, en Reino Unido se estima que ocurren aproximadamente 1700 muertes al año a causa del MMP; sin embargo, se previó que el pico de mortalidad ocurriera entre 2011 y 2015 con un promedio de 1950 a 2450 muertes por año (Benamore R. E. *et al.*, 2005). En México durante el periodo de 1979 a 2010 se contabilizaron 2663 muertes por MPM, según cifras oficiales. De estas, 62% correspondieron a hombres y 38% a mujeres, y la edad promedio de muerte fue de 49 años, con un rango de 33 a 85 años. A partir de 1998 se documentó la epidemia de MPM con 81 casos por año, mientras que para

el año 2010 se presentaron 231 casos anuales, es decir, en el período de tiempo antes mencionado hubo 165 casos en promedio por año, a diferencia de 1979 a 1987, lapso en el que se registraron 26 casos en promedio. Además, se ha estimado que existen de dos a ocho casos de cáncer pulmonar asociados a la exposición al asbesto por cada caso de MPM (independientemente del hábito tabáquico), por lo que, en el mejor escenario de dos casos, se han producido 9445 muertes por este cáncer (Gopar-Nieto R. *et al.*, 2016).

Desafortunadamente, casi todo el tratamiento de esta enfermedad se basa en paliar el dolor y alivio de los síntomas, sin que se tengan curas definitivas hasta el momento. Para la disnea ocasionada por el derrame pleural se ha utilizado la aspiración del líquido pleural y en derrames complicados se ha realizado pleurodesis con talco y vincristina por medio de toracoscopia, con lo que se previenen futuros derrames, aunque en algunos casos también se ha empleado sonda endopleural. También han sido utilizados opioides a dosis bajas para reducir la sensación de falta de aire y disminuir la ansiedad, mientras que para la disfagia se ha utilizado el *stent* esofágico (Van Meerbeek J. P. *et al.*, 2011). El esquema de quimioterapia recomendado como primera línea es la combinación de derivados del platino, como el cisplatino. Para la segunda línea se ha añadido permetrexed en los pacientes que no lo hayan recibido previamente (Van Thiel E. *et al.*, 2010). Sin embargo, el cisplatino puede causar nefrotoxicidad y neurotoxicidad en personas de edad avanzada, por lo que puede sustituirse con carboplatino (Ray M. *et al.*, 2009).

Para evaluar el cambio que tiene el tumor según el tratamiento se han utilizado los Response Evaluation Criteria in Solid Tumours (RECIST) (Eisenhauer E. *et al.*, 2009), sin embargo, este método es poco adecuado para la medición de la respuesta en MPM, ya que el crecimiento de este tumor tiende a envolver el pulmón como si fuera una cáscara o a crecer entre las cisuras interlobares, es decir, no crece de manera concéntrica como los demás tumores, por lo que para obtener mediciones confiables se ha propuesto una modificación a los criterios del año 2000, la cual consiste en realizar una medición unidimensional del grosor tumoral, perpendicular al mediastino o a la pared costal, en dos sitios y en tres niveles distintos de la TAC, con cortes separados al menos 1cm, relacionados con referencias anatómicas, de preferencia encima de la bifurcación de los bronquios principales (Byrne M. J. *et al.*, 2004; Nowak A. K. *et al.*, 2005).

El uso de radioterapia como método curativo se ve limitado por el tamaño del tumor y por el riesgo potencial de toxicidad. Principalmente, se ha utilizado como adyuvante después de la neumonectomía extrapleural y se ha observado que una dosis de 54Gy da lugar a 13% de recurrencia local (Van Meerbeeck J. P. *et al.*, 2011).

Cabe resaltar que los procedimientos quirúrgicos deben realizarse solamente en pacientes seleccionados y deben ser llevados a cabo por cirujanos experimentados. Los procedimientos que pueden realizarse son la pleurectomía con decorticación, la cual consiste en retirar macroscópicamente la mayor cantidad de tumor en conjunto con la pleura visceral, la pleura parietal y el pericardio, y la neumonectomía extrapleural, en la cual se escinde la pleura, parte del pulmón, los nódulos linfáticos, además de una parte del diafragma y del pericardio del hemitórax afectado; estas intervenciones pueden llegar a generar una mortalidad del 5 a 15% y no previenen la reaparición del tumor, además de presentar complicaciones como fibrilación atrial, trombosis venosa, taponamiento cardíaco, empiema, embolismo pulmonar y fístula broncopleural (Van Thiel E. *et al.*, 2010).

El tratamiento multimodal consiste en la aplicación de radioterapia postquirúrgica con o sin quimioterapia. En este sentido, Van Meerbeeck *et al.*, (2010) trataron a 183 pacientes con neunectomia extrapleural seguida de quimioterapia y radioterapia adyuvante; reportaron una sobrevida media de 19 meses y lograron que el 38% de los pacientes sobrevivieran a los dos años y el 15% a los cinco años. El MPM es clasificado en 3 subtipos histológicos principales: epitelioide, sarcomatoide y bifásico (desmoplásico, fibrótico, entre otros). El subtipo epitelioide es el más común y tiene el mejor pronóstico (De Rosario C. *et al.*, 2012).

Los acercamientos terapéuticos usados para MPM se han mencionado antes y la mesotelina, glicoproteína normalmente expresada en la superficie de células mesoteliales, permanece a la fecha como el único marcador usado en el diagnóstico del MPM. Así como en otros tumores sólidos, la patogénesis de MPM ocurre gradualmente a través de la adquisición de algunas características típicas de células malignas, como la supresión de apoptosis, capacidad ilimitada de replicación celular, invasión tisular y metástasis (Creaney J. *et al.*, 2017).

A nivel celular, el mecanismo de Transición Epitelio-Mesénquima es regulado por señales moleculares específicas, las células epiteliales pierden la expresión de componentes adherentes, como E-cadherina, e incrementa la expresión de Vimentina, Slug y Snail, usados

comúnmente para la identificación de células que han entrado en proceso de malignidad (Roussos E. T. *et al.*, 2010).

Entre los genes supresores de metástasis, se encuentran KiSS-1 y su único receptor acoplado a proteína G (KiSS-1R), se han visto involucrados en las etapas tardías de la cascada metastásica previniendo el crecimiento de estas células tumorales (Ohtaki T. *et al.*, 2001).

Ciaramella y colaboradores, en 2018, realizaron una serie de experimentos con el propósito de estudiar la señalización de KiSS-1 en mesotelioma, proponiendo que podría ser un factor importante en la inhibición de la progresión, invasión y metástasis del mesotelioma. La pérdida de KiSS-1 por parte de las células tumorales, se ha asociado con un fenotipo metastásico, pero aún se desconocía su participación en mesotelioma. Para estudiar el papel de KiSS-1 y KiSS-1R, evaluaron la expresión de sus niveles en líneas celulares de mesotelioma; seleccionaron 3 líneas representativas de los diferentes subtipos: H2452 (mesotelioma epitelial), H28 (mesotelioma sarcomatoide), y MSTO (mesotelioma bifásico). Los análisis de qPCR y Western blot revelaron la presencia tanto de transcritos como de proteínas en las tres líneas celulares, niveles más altos fueron observados en H2452 y H28 más que en MSTO, donde la expresión fue significativamente menor. Una de las características principales de las células malignas es su habilidad para crecer en monocapas y colonias para invadir tejidos adyacentes. La inhibición se observó de manera dosis-dependiente en la viabilidad celular después del tratamiento con Kp-10 en H2452, H28 y MSTO. Fueron cultivadas inicialmente en la presencia de dosis aumentadas de Kp-10, desde 10^{-12} a 10^{-7} M y, analizadas después de 72h, observando una progresiva disminución en la proliferación celular con dosis altas, con el valor de la IC50 entre 10^{-9} y 10^{-7} M. Además, evaluaron las capacidades invasivas, migratorias y de formación de colonias *in vitro*. Siguiendo un tratamiento con Kp-10, en un rango de 0.001, 0.01, 0.1 nM las células parecieron perder su agresividad y probablemente sus altas capacidades metastásicas, de hecho, los resultados mostraron una fuerte reducción de >80% de la invasión celular en presencia de Kp-10 que el control sin tratamiento. Datos similares se obtuvieron con respecto a la migración celular y la capacidad de formación de colonias dependiente de anclaje. En particular, con una dosis de Kp-10 0.1nM la habilidad migratoria de las células disminuyó en un 50% en la línea H2452 y un 60% en H28 y MSTO. Ya que Kp-10 tiene una vida media

corta, el grupo investigador decidió llevar a cabo los mismos experimentos *in vitro* utilizando un nuevo péptido sintético con una vida media más larga, FTM080, un receptor agonista de KiSS-1R sintetizado con base en la secuencia conocida de Kp-10. Sorprendentemente obtuvieron un efecto más fuerte en términos de inhibición de la proliferación, invasión y formación de colonias después del tratamiento con FTM080, demostrando que el efecto anti metastásico puede ser potenciado usando una molécula sintética. Seleccionaron las líneas celulares H2542 y H28 para examinar si mostraban evidencias de cambios moleculares relacionados con la TEM, cuantificaron por análisis de citometría de flujo el marcador epitelial Ep-Cam, después del tratamiento con Kp-10. Las líneas celulares fueron tratadas con 0.1 nM de Kp-10 durante 48 horas y marcadas con anticuerpos para Ep-Cam, la cual funciona como una molécula de adhesión. El análisis reveló una importante sobreexpresión del elemento epitelial: un incremento de Ep-Cam del 27% y 15% en H28 y H2542 respectivamente, indicando que la presencia de Kp-10 está asociada con un fenotipo epitelial, favoreciendo un comportamiento menos agresivo.

La TEM también causa reorganización de la matriz extracelular (MEC), promoviendo la expresión de moléculas como las metaloproteinasas (MMPs). En este contexto, juegan un papel crítico en la migración e invasión celular, estimulando la degradación de la MEC y una expresión incrementada está asociada con la progresión de la enfermedad. Las células H28 y H2452 exhibieron una considerable reducción de MMP-2 y MMP-9 después del tratamiento con 0.1 nM de Kp-10, apoyado por análisis de zimografía en gel. La disminución en la producción de proteína corresponde a una actividad reducida de MMP-2 y MMP-9, demostrando la función protectora de Kp-10 en términos de cambios estructurales y de comportamiento agresivo asociados a la recurrencia tumoral (Ciaramella V. *et al.*, 2018).

Por medio de análisis de Western blot, en células H28 y H2452 tratadas con 0.1 nM de Kp-10 por 48 horas; observando una regulación positiva de E-cadherina, así como una pérdida consistente de marcadores mesenquimales, como Vimentina, Snail y Slug, reforzando el hecho de que las células bajo los efectos de Kp-10, mantienen un fenotipo epitelial. Además, observaron un aumento en la expresión de Survivina, lo que los llevó a hipotetizar una función pro supervivencia en células después del tratamiento. Ya que los estudios *in vitro* revelaron cambios en la expresión de proteínas mesenquimales Snail y Vimentina, además

en la actividad de MMP-2 y MMP-9, también investigaron si el tratamiento con Kp-10 bloquea el comportamiento metastásico tumoral *in vivo* (Ciaramella V. *et al.*, 2018).

En un estudio realizado por Tomita y colaboradores, en 2008, demostraron que Kp-10 es degradada completamente en suero murino dentro de 1 hora; en contraste FTM080, el pentapéptido agonista que exhibió una activación potenciada de KiSS-1R, tiene una vida media en suero murino de 6.6 horas, y ofrece mayor estabilidad bajo condiciones fisiológicas (Tomita K. *et al.*, 2008).

Por lo tanto, realizaron ensayos de metástasis artificial mediante la inyección de células H2452 en la vena de la cola de ratones desnudos Balb/c (6 por grupo control y 6 por grupo de tratamiento), siendo tratados con FTM080 (10 mg/kg 4 días a la semana durante 3 semanas). Los órganos fueron analizados macroscópicamente en busca de lesiones tumorales. Un rápido y preciso método para evaluar la formación de micro metástasis, y la eficacia terapéutica de medicamentos en xenoinjertos, es el análisis de la secuencia Alu (Schneider T. *et al.*, 2002). Con ello, evaluaron la formación de micro metástasis pulmonar cuantificando la porción humana de DNA en los pulmones de ratón empleando PCR en tiempo real para las secuencias Alu humanas. Los ratones no tratados exhibieron una gran cantidad de ADN humano expresado como porcentaje de secuencias humanas Alu, precisamente, la cantidad de porciones Alu fue aproximadamente 5 veces mayor que los ratones tratados con FTM080, demostrando la eficacia del tratamiento anti metastásico *in vivo* (Ciaramella V. *et al.*, 2018).

Varios estudios han demostrado evidencia convincente sobre el papel de la señalización de KiSS-1 y KiSS-1R en la regulación del desarrollo cancerígeno. Además, KiSS-1 se ha mostrado como un supresor de metástasis en variedad de cánceres, incluyendo el cáncer gástrico, carcinoma esofágico, pancreático, ovárico, de vejiga y de próstata (Ji K. *et al.*, 2013).

En el contexto del mesotelioma, observaron una prevalencia en los niveles de expresión de KiSS-1 y KiSS-1R en las líneas celulares H2452 (mesotelioma epitelioide) y H28 (sarcomatoide). Con el tratamiento de Kp-10 lograron una reducción en la agresividad y de habilidades metastásicas. Después de observar la inhibición en la invasión y migración el grupo liderado por Ciaramella (2018), concentró la atención en el mecanismo de la

Transición Epitelio-Mesénquima, donde los niveles de expresión del marcador Ep-Cam se incrementaron después del tratamiento con Kp-10, sugiriendo que su presencia favorece el mantenimiento de un fenotipo epitelial, el cual presenta un comportamiento menos agresivo, efectos similares se observaron con la regulación a la alta de E-cadherina, mientras que la pérdida de los marcadores típicos mesenquimales Snail, Slug y Vimentina refuerzan la retención del fenotipo epitelial. Además, los efectos de Kp-10 sobre las metaloproteinasas fueron positivos, resultando en importantes reducciones de MMP-2 y MMP-9 después del tratamiento con 0.1 nM de Kp-10, evidenciado por los análisis de zimografía. Los resultados obtenidos fueron satisfactorios generalmente (Ciaramella V. *et al.*, 2018).

Ciaramella y colaboradores, han realizado una investigación clave mesotelioma pleural maligno demostrando que Kp-10 juega un papel importante en la inhibición de la cascada metastásica, incluyendo la proliferación, invasión y migración, además, actuando directamente sobre la señalización intracelular, modificando su actividad y la expresión de proteínas específicas ligadas con la Transición Epitelio-Mesénquima. Sugiriendo que el sistema KiSS-1/KiSS-1R tiene una ‘función protectora’ inhibiendo la transformación de células epiteliales a un fenotipo mesenquimal más agresivo. Consecuentemente, abriendo la posibilidad de utilizar moléculas sintéticas de Kp-10 (FTM080) como terapia en tumores caracterizados por una supervivencia disminuida (Ciaramella V. *et al.*, 2018).

19. Osteosarcoma

Los tumores óseos primarios son un grupo de neoplasias benignas y malignas con un rango amplio de alteraciones genéticas y presentaciones histológicas (Flanagan A. & Lindsay D. A. 2017). Constituyen 1% de los cánceres en el adulto, siendo el osteosarcoma el tumor más frecuente en todas las edades, seguido por el condrosarcoma en adultos (Kumar N. *et al.*, 2016).

El tumor de células gigantes (TCG) es una neoplasia benigna localmente agresiva que se asocia con una gran variedad biológica, que varía desde una transformación maligna (10%) hasta metástasis pulmonares (1-4%), con tasas de recurrencia local que varían entre 10 y 75% de los pacientes (Mavrogenis A. *et al.*, 2017; Lin F. *et al.*, 2016; Amelio J. M. *et al.*, 2016).

Esta neoplasia tiene una ligera predilección por las mujeres teniendo una relación hombre/mujer de 1:1.5 (Mavrogenis A. *et al.*, 2017; Amelio J. M. *et al.*, 2016). La mayoría de los casos de TCG se presenta en personas entre los 20 y 40 años de edad y < 10% de las incidencias en población pediátrica y adultos mayores de 65 años. Usualmente involucra el final de un hueso largo. La mayoría se presenta, en orden decreciente, en las siguientes regiones óseas: fémur distal, tibia proximal, radio distal, sacro y húmero proximal, siendo la región de la rodilla la más frecuente (50%), otros sitios de menor frecuencia son la cabeza del peroné y el fémur proximal (Amelio J. M. *et al.*, 2016; Gouin F. *et al.*, 2012; Raskin K. *et al.*, 2013).

La Sociedad Americana Contra El Cáncer estimó que en el año 2022:

- Se diagnosticarán alrededor de 3,910 nuevos casos
- Alrededor de 2,100 muertes a causa de estos tipos de cáncer

Los casos de cáncer de hueso primario representan menos del 0.2% de todos los casos de cáncer. En los adultos, más del 40% de los cánceres de hueso primario son condrosarcomas, seguidos por osteosarcomas (28%), cordomas (10%), tumores de Ewing (8%) e histiocitomas fibrosos malignos/fibrosarcomas (4%). Los principales métodos de intervención incluyen cirugía, quimioterapia y radioterapia, a pesar de los avances realizados en el desarrollo de estrategias terapéuticas, debido a que es una neoplasia agresiva, es resistente a la mayoría tratamientos y los pacientes desarrollan metástasis recurrente después de la cirugía, con una tasa de supervivencia a 5 años del 50-60% (Marina N. *et al.*, 2004; Song Q. C: *et al.*, 2014).

Se han realizado algunos estudios enfocados en estudiar el papel de KiSS-1 en osteosarcoma (OS); observándose que los ARN largos no codificantes (lncRNAs) tienen el potencial de regular la expresión de genes que con frecuencia depende de la homología de secuencia y el mecanismo particular de regulación se puede asociar con la homología a diferentes regiones del gen. Por ejemplo, el lncRNA linc00261 funciona como supresor tumoral en cáncer gástrico al reducir la estabilidad de las proteínas Slug e inhibir la transición epitelio mesénquima (TEM) (Yu Y. *et al.*, 2017), y el lncRNA NR_036575.1 actúa como oncogén en el cáncer papilar de tiroides, contribuyendo en la mejora de la proliferación celular, lo que

sugiere que los lncRNAs podrían aplicarse como posibles biomarcadores y dianas terapéuticas (Sun W. *et al.*, 2016).

Zhang y colaboradores, en 2019, identificaron a MNX1-AS1 como un nuevo oncogén en OS, al realizar análisis por medio de qRT-PCR en 3 líneas celulares (Saos-2, MG-63 y SOSP-9607) y 44 muestras de tejido, se dieron cuenta que MNX1-AS1 se encontraba sobreexpresado, comparados con tejidos no tumorales adyacentes. Posteriormente seleccionaron la línea Saos-2 para realizar el knockdown de MNX1-AS1 (Saos-2/sh-MNX1-AS1), revelando una viabilidad celular disminuida y formación de colonias reducida. Con la sobreexpresión de MNX1-AS1 en la línea SOSP-9607, observaron una viabilidad celular aumentada y un número incrementado en la formación de colonias. Para identificar la función de MNX1-AS1 en la metástasis *in vitro*, realizaron ensayos en cámara Transwell con las líneas antes mencionadas (Saos-2/sh-MNX1-AS1) y SOSP-9607 (sobreexpresando MNX1-AS1); encontrando que el número de células invasoras fue marcadamente reducido, por el contrario, en las células SOSP-9607 se observó un efecto contrario. Por otra parte, resultados de la prueba qRT-PCR mostraron que los niveles de expresión de KiSS-1 en células sh-MNX1-AS1 fueron más altos comparados con el grupo control, y más bajos en las células SOSP-9607. Además, el análisis con Western blot mostró que después del knockdown del lncRNA, KiSS-1 pudo ser regulado positivamente, observando una importante reducción de KiSS-1 después de la sobreexpresión de MNX1-AS1. En tejidos humanos encontraron una expresión disminuida comparada con tejidos adyacentes, además, los niveles de expresión de KiSS-1 se correlacionaban de manera negativa con la expresión de MNX1-AS1 en tejidos de osteosarcoma. Con estos datos, Zhang y colaboradores, sugirieron a MNX1-AS1 como un nuevo blanco terapéutico para osteosarcoma. Además, otros estudios apoyan los efectos positivos de KiSS-1 en osteosarcoma (Zhang Y. *et al.*, 2019).

Yin y colaboradores, en 2017, realizaron un estudio mostrando que las tasas de proliferación en los grupos control y de baja expresión de KiSS-1 en la línea celular MG-63, seguían incrementando con el tiempo, mientras que en el grupo con sobreexpresión de KiSS-1 mediante pcDNA3.1 se redujo considerablemente. Basados en esto, sugirieron que KiSS-1 puede participar como anti oncogén. Además, la actividad en la proliferación tumoral se vio reducida con la sobreexpresión de KiSS-1, en contraste, los bajos niveles de KiSS-1 llevaron

a un rápido desarrollo maligno. Otro punto importante a mencionar, es la participación de KiSS-1 en la apoptosis de osteosarcoma, las células con baja expresión de KiSS-1 (grupos control y de baja expresión) no mostraron diferencia en las tasas de apoptosis, sin embargo, con la expresión aumentada de KiSS-1 se vio incrementada y observaron tasas elevadas de apoptosis. Relacionado a esto, los niveles de expresión relativa de caspasa-3 y el mRNA de Bax, permanecieron sin cambios importantes e incrementaron los de Bcl-2, mientras que en el grupo con sobreexpresión de KiSS-1, aumentaron los niveles de caspasa-3 y mRNA de Bax, con una reducción en los de Bcl-2 (Yin Y. *et al.*, 2017).

Es importante señalar que la autofagia es diferente de la apoptosis ya que se caracteriza por autofagosomas formados dentro de las células. Beclina 1 es considerada necesaria para las etapas tempranas de la autofagia (Wu W. *et al.*, 2014). LC3 está estrechamente relacionado con Beclina 1, y es usado como marcador de autofagia (Ma K. *et al.*, 2016).

Durante el tiempo de cultivo celular, no se observaron cambios significativos en los niveles de LC3 y mRNA de Beclina 1 en los grupos control y de baja expresión, mientras que estos se incrementaron en el grupo con sobreexpresión de KiSS-1, indicando que, en este último, el proceso de autofagia probablemente esté acelerado (Yin Y. *et al.*, 2017).

Por último, la invasión de OS se ha observado inhibida por KiSS-1 en un estudio realizado por Zhang y colaboradores, en 2013, en el cual emplearon la línea celular MG-63, ya que al carecer de la expresión de KiSS-1, presenta una actividad invasora más alta que Saos-2 y U-2 OS, las cuales tienen baja o moderada expresión. Para conocer los efectos de KiSS-1, primero confirmaron que los niveles de KiSS-1 se encontraban disminuidos en la línea MG-63, aumentado en tejidos humanos lo cual se relaciona con metástasis. Encontraron que KiSS-1 se encontraba disminuido en el núcleo y el citoplasma de tejidos humanos OS (40 muestras de pacientes), comparados con tejido no canceroso adyacente (ANCT), sugiriendo que la pérdida de KiSS-1 está involucrada con el desarrollo del osteosarcoma. Demostraron que la sobreexpresión de KiSS-1 inhibe el crecimiento y la invasión de OS con una expresión disminuida de p38MPAK, sugiriendo que KiSS-1 puede funcionar a través de la regulación de esta vía. Se ha demostrado que KiSS-1 inhibe la expresión de p38 MAPK, MMP-9, el crecimiento tumoral y la invasión. En conclusión, los estudios realizados indican que KiSS-

1 puede funcionar como un potente blanco terapéutico para el tratamiento del cáncer, siempre y cuando el diagnóstico sea oportuno (Zhang Y. *et al.*, 2013).

Conclusiones

Malignidad	mRNA KiSS-1	mRNA KiSS-1R	Efecto	Pronóstico
Cáncer de mama	↑	↑	Supresor tumoral, inhibe TEM. Induce metástasis, invasión y resistencia a quimioterapia.	Controversial
	↓	↓		
Colorrectal	↑	↑	Inhibe la invasión vía PKR y PP2A. Reduce la expresión de MMP-9 bloqueando la señalización de PI3K/AKT/NK-κβ.	Mejor
Endometrio			<i>In vitro</i> : Inhibición de la migración e invasión. Sin cambios en la proliferación. <i>In vivo</i> : reduce las metástasis linfáticas	Mejor
	↓	↓		
Próstata			Inhibición de angiogénesis en xenoinjertos. Inhibe invasión, migración y crecimiento celular vía EIF2AK2. Los niveles disminuyen con estadios avanzados.	Mejor
	↓	↓		
Tiroides	↑	↑	Sobreexpresión suprime viabilidad celular, migración, invasión, proliferación e induce apoptosis.	Mejor
Vejiga			<i>In vitro</i> : Sobreexpresión inhibe la invasión, migración, aumento de E-cadherina. <i>In vivo</i> : reduce la tasa metastásica.	Mejor
	↓	↓		
Gástrico			Sobreexpresión inhibe la migración, invasión y proliferación. Suprime la expresión de MMP-9 activando p38MAPK.	Mejor
	↓	↓		
Ovárico	↑	↑	Inhibición de la migración, sensibilización a fármacos, supresión de metástasis y la expresión de NK-κβ y MMP-9.	Mejor
	↓	↓		
Pancreático	↑	↑	Sobreexpresión suprime la metástasis, invasión, motilidad, e incrementa los niveles de pp38 y pERK1.	Mejor
Colangiocarcinoma			La falta de KiSS-1 permite una alta capacidad de colonización y formación de micro metástasis. Menor tasa de supervivencia en modelos de ratones.	Sin comprobar
	↓	↓		

Continuación...

Malignidad	mRNA KiSS-1	mRNA KiSS-1R	Efecto	Pronóstico
Adrenocortical			Inhibe la capacidad migratoria, reduce la expresión de MMP-9 a través de PI3K/AKT.	Mejor
	↓	↓		
Renal	↑	↑	Sobreexpresión de KiSS-1 inhibe la migración e invasión. Induce formación excesiva de adhesiones focales y fibras de estrés.	Mejor
Cabeza y cuello			Restauración de KiSS-1 suprime la motilidad y mejora la quimiosensibilidad. Suprime el crecimiento tumoral en modelos animales.	Mejor
	↓	↓		
Células escamosas de esófago	↑		Inhibición de metástasis. Los niveles de expresión de KiSS-1 y su receptor se relacionan con la incidencia de metástasis a nódulos linfáticos.	Sin comprobar
		↓		
Nasofaríngeo			<i>In vitro</i> : Sobreexpresión inhibe la proliferación, retrasa el ciclo celular, incrementa la apoptosis y fosforilación de LKB1 y AMPK. <i>In vivo</i> : ralentiza el crecimiento tumoral.	Mejor
	↓	↓		
Hepatocelular	↑	↑	Promoción de la progresión tumoral e inducción de metástasis. Los niveles de expresión de KiSS-1 se correlacionan con el grado del tumor y estadio.	Grave/ Controversial
Melanoma	↑	↑	La transfección y sobreexpresión de KiSS-1 suprime la metástasis, motilidad e invasión. Disminuye la expresión de MMP-9, a través de NK-κβ.	Mejor
Mesotelioma	↑	↑	<i>In vitro</i> : Reducción del fenotipo agresivo y la formación de colonias, por la pérdida de Vimentina, Snail y Slug, reducción de MMP-9 y MMP-2, y el aumento de E-cadherina y Epcam. <i>In vivo</i> : Tratamiento anti metastásico efectivo en ratones tratados con FTM080.	Mejor
Osteosarcoma	↑	↑	La sobreexpresión de KiSS-1 suprime la proliferación y promueve la apoptosis, aumentando los niveles de Beclina-1, caspasa-3, Bax y LC3. Disminuye el potencial invasivo reduciendo MMP-9.	Mejor

REFERENCIAS

Alkafaji, H. A., Raji, A., Rahman, H. S., Zekiy, A. O., Adili, A., Jalili, M., Hojjatipour, T., Cid-Arregui, A., Shomali, N., Tarzi, S., Tamjidifar, R., Heshmati, R., Marofi, F., Akbari, M., Hasanzadeh, A., Deljavanghodrati, M., Jarahian, M., & Sandoghchian Shotorbani, S. (2021). Up-regulation of KISS1 as a novel target of Let-7i in melanoma serves as a potential suppressor of migration and proliferation in vitro. *Journal of cellular and molecular medicine*, 25(14), 6864–6873.

Arab, K., Smith, L. T., Gast, A., Weichenhan, D., Huang, J. P., Claus, R., Hielscher, T., Espinosa, A. V., Ringel, M. D., Morrison, C. D., Schadendorf, D., Kumar, R., & Plass, C. (2011). Epigenetic deregulation of TCF21 inhibits metastasis suppressor KISS1 in metastatic melanoma. *Carcinogenesis*, 32(10), 1467–1473.

Beck, B. H., & Welch, D. R. (2010). The KISS1 metastasis suppressor: a good night kiss for disseminated cancer cells. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 46(7), 1283–1289.

Blake, A., Dragan, M., Tirona, R. G., Hardy, D. B., Brackstone, M., Tuck, A. B., Babwah, A. V., & Bhattacharya, M. (2017). G protein-coupled KISS1 receptor is overexpressed in triple negative breast cancer and promotes drug resistance. *Scientific reports*, 7, 46525.

Cao, F., Chen, L., Liu, M., Lin, W., Ji, J., You, J., Qiao, F., & Liu, H. (2016). Expression of preoperative KISS1 gene in tumor tissue with epithelial ovarian cancer and its prognostic value. *Medicine*, 95(46), e5296.

Cebrian, V., Fierro, M., Orenes-Piñero, E., Grau, L., Moya, P., Ecke, T., Alvarez, M., Gil, M., Algaba, F., Bellmunt, J., Cordon-Cardo, C., Catto, J., López-Beltrán, A., & Sánchez-Carbayo, M. (2011). KISS1 methylation and expression as tumor stratification biomarkers and clinical outcome prognosticators for bladder cancer patients. *The American journal of pathology*, 179(2), 540–546.

Chen, S. Q., Chen, Z. H., Lin, S. Y., Dai, Q. B., Fu, L. X., & Chen, R. Q. (2014). KISS1 methylation and expression as predictors of disease progression in colorectal cancer patients. *World journal of gastroenterology*, 20(29), 10071–10081.

Chen, S., Chen, W., Zhang, X., Lin, S., & Chen, Z. (2016). Overexpression of KiSS-1 reduces colorectal cancer cell invasion by downregulating MMP-9 via blocking PI3K/Akt/NF-κB signal pathway. *International journal of oncology*, 48(4), 1391–1398.

- Cho, S. G., Li, D., Stafford, L. J., Luo, J., Rodriguez-Villanueva, M., Wang, Y., & Liu, M. (2009). KiSS1 suppresses TNF α -induced breast cancer cell invasion via an inhibition of RhoA-mediated NF-kappaB activation. *Journal of cellular biochemistry*, 107(6), 1139–1149
- Cho, S. G., Yi, Z., Pang, X., Yi, T., Wang, Y., Luo, J., Wu, Z., Li, D., & Liu, M. (2009). Kisspeptin-10, a KISS1-derived decapeptide, inhibits tumor angiogenesis by suppressing Sp1-mediated VEGF expression and FAK/Rho GTPase activation. *Cancer research*, 69(17), 7062–7070.
- Ciamarella, V., Della Corte, C. M., Di Mauro, C., Tomassi, S., Di Maro, S., Troiani, T., Martinelli, E., Bianco, R., Cosconati, S., Pierantoni, R., Meccariello, R., Chianese, R., Ciardiello, F., & Morgillo, F. (2018). Antitumor efficacy of Kisspeptin in human malignant mesothelioma cells. *Oncotarget*, 9(27), 19273–19282.
- Ciamarella, V., Della Corte, C. M., Ciardiello, F., & Morgillo, F. (2018). Kisspeptin and Cancer: Molecular Interaction, Biological Functions, and Future Perspectives. *Frontiers in endocrinology*, 9, 115.
- Colledge W. H. (2008). GPR54 and kisspeptins. *Results and problems in cell differentiation*, 46, 117–143.
- Connolly, D., Yang, Z., Castaldi, M., Simmons, N., Oktay, M. H., Coniglio, S., Fazzari, M. J., Verdier-Pinard, P., & Montagna, C. (2011). Septin 9 isoform expression, localization and epigenetic changes during human and mouse breast cancer progression. *Breast cancer research : BCR*, 13(4), R76
- Cvetković, D., Babwah, A. V., & Bhattacharya, M. (2013). Kisspeptin/KISS1R System in Breast Cancer. *Journal of Cancer*, 4(8), 653–661.
- D'Alaimo Brenes, N., D'Avanzo Zúñiga, D., & Mora Membreño, K. V. (2020). Abordaje del colangiocarcinoma. *Revista Medica Sinergia*, 5(6), e515.
- Dai, Y., Duan, H., Duan, C., Zhu, H., Zhou, R., Pei, H., & Shen, L. (2017). TCF21 functions as a tumor suppressor in colorectal cancer through inactivation of PI3K/AKT signaling. *Oncotargets and therapy*, 10, 1603–1611.
- Dhar, D. K., Naora, H., Kubota, H., Maruyama, R., Yoshimura, H., Tonomoto, Y., Tachibana, M., Ono, T., Otani, H., & Nagasue, N. (2004). Downregulation of KiSS-1 expression is responsible for tumor invasion and worse prognosis in gastric carcinoma. *International journal of cancer*, 111(6), 868–872.

Dragan, M., Nguyen, M. U., Guzman, S., Goertzen, C., Brackstone, M., Dhillon, W. S., Bech, P. R., Clarke, S., Abbara, A., Tuck, A. B., Hess, D. A., Pine, S. R., Zong, W. X., Wondisford, F. E., Su, X., Babwah, A. V., & Bhattacharya, M. (2020). G protein-coupled kisspeptin receptor induces metabolic reprogramming and tumorigenesis in estrogen receptor-negative breast cancer. *Cell death & disease*, *11*(2), 106.

Esteller, M. (2007). Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylation. *Human Molecular Genetics*, *16*(R1), R50-R59.

Farooqi, A. A., Attar, R., Bageshlooyafshar, B., Sabitaliyevich, U. Y., Nurmurazayevich, S. B., Yelekenova, A. B., & Gormus, U. (2019). Regulation of Kisspeptin mediated signaling by non-coding RNAs in different cancers: the beginning of a new era. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, *65*(3), 72–75.

Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. Global and regional estimates of the incidence and mortality for 38 cancers: GLOBOCAN 2018. Lyon:International Agency for Research on Cancer/World Health Organization;2018.

Fratangelo, F., Carriero, M. V., & Motti, M. L. (2018). Controversial Role of Kisspeptins/KiSS-1R Signaling System in Tumor Development. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 192.

Funes S, Hedrick JA, Vassileva G, Markowitz L, Abbondanzo S, Golovko A, Yang S, Monsma FJ, Gustafson EL (2003) The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the GPR54 and Kisspeptins 139 development of the murine reproductive system. *Biochem Biophys Res Commun* 312:1357–1363

Gálvez-Ríos, S., Sobrino-Cossío, S., Siu, A., Chaurand, M., Abdo-Francis, M., López-Colombo, A., Fenocchi, E., Galvis-García, E., Teramoto-Matsubara, S., Meixueiro-Daza, A., Grube-Pagola, P., Gómez-Castaños, P. C., Rascón-Sosa, O., Rivera-Gutiérrez, X. J., Cobos-Quevedo, O., Pérez-Luna, E. & Remes-Troche, J. M. (2020). Resultados de la prueba inmunoquímica fecal en un programa de escrutinio para cáncer colorrectal en México. *Cirugía y Cirujanos*, *88*(5).

Guan-Zhen, Y., Ying, C., Can-Rong, N., Guo-Dong, W., Jian-Xin, Q., & Jie-Jun, W. (2007). Reduced protein expression of metastasis-related genes (nm23, KISS1, KAI1 and p53) in lymph node and liver metastases of gastric cancer. *International journal of experimental pathology*, *88*(3), 175–183.

Guzman, S., Brackstone, M., Radovick, S., Babwah, A. V., & Bhattacharya, M. M. (2018). KISS1/KISS1R in Cancer: Friend or Foe?. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 437.

Harihar, S., Ray, S., Narayanan, S., Santhoshkumar, A., Ly, T., & Welch, D. R. (2020). Role of the tumor microenvironment in regulating the anti-metastatic effect of KISS1. *Clinical & experimental metastasis*, 37(2), 209–223.

Hata, K., Dhar, D. K., Watanabe, Y., Nakai, H., & Hoshiai, H. (2007). Expression of metastin and a G-protein-coupled receptor (AXOR12) in epithelial ovarian cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, 43(9), 1452–1459.

Hidden, U., Bilban, M., Knöfler, M., & Desoye, G. (2007). Kisspeptins and the placenta: regulation of trophoblast invasion. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 8(1), 31–39.

Icaza-Chávez, M. E., Tanimoto, M. A., Huerta-Iga, F. M., Remes-Troche, J. M., Carmona-Sánchez, R., Ángeles-Ángeles, A., Bosques-Padilla, F. J., Blancas-Valencia, J. M., Grajales-Figueroa, G., Hernández-Mondragón, O. V., Hernández-Guerrero, A. I., Herrera-Servín, M. A., Huitzil-Meléndez, F. D., Kimura-Fujikami, K., León-Rodríguez, E., Medina-Franco, H., Ramírez-Luna, M. A., Sampieri, C. L., Vega-Ramos, B., & Zentella-Dehesa, A. (2020). The Mexican consensus on the detection and treatment of early gastric cancer. Consenso mexicano sobre detección y tratamiento del cáncer gástrico incipiente. *Revista de gastroenterología de Mexico (English)*, 85(1), 69–85.

Ikeguchi, M., Yamaguchi, K., & Kaibara, N. (2004). Clinical significance of the loss of KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 10(4), 1379–1383.

Ikeguchi, M., Hirooka, Y., & Kaibara, N. (2003). Quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction analysis for KiSS-1 and orphan G-protein-coupled receptor (hOT7T175) gene expression in hepatocellular carcinoma. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 129(9), 531–535.

Islas Pérez, Laura Ángela, Martínez Reséndiz, Jorge Ignacio, Ruiz Hernández, Abigail, Ruvalcaba Ledezma, Jesús Carlos, Benítez Medina, Azucena, Beltran Rodríguez, María Guadalupe, Yáñez González, Andrea, Rivera Gómez, Maricarmen, Jiménez Sánchez, Reyna Cristina, & Reynoso Vázquez, Josefina. (2020). Epidemiología del cáncer de próstata, sus determinantes y prevención. *Journal of Negative and No Positive Results*, 5(9), 1010-1022.

Javed, Z., Qamar, U., & Sathyapalan, T. (2015). The role of kisspeptin signalling in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis--current perspective. *Endokrynologia Polska*, 66(6), 534–547.

Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;8:1893-907.

Ji, K., Ye, L., Ruge, F., Hargest, R., Mason, M. D., & Jiang, W. G. (2014). Implication of metastasis suppressor gene, Kiss-1 and its receptor Kiss-1R in colorectal cancer. *BMC cancer*, *14*, 723.

Ji, K., Ye, L., Mason, M. D., & Jiang, W. G. (2013). The Kiss-1/Kiss-1R complex as a negative regulator of cell motility and cancer metastasis (Review). *International journal of molecular medicine*, *32*(4), 747–754.

Jiang, Y., Berk, M., Singh, L. S., Tan, H., Yin, L., Powell, C. T., & Xu, Y. (2005). KiSS1 suppresses metastasis in human ovarian cancer via inhibition of protein kinase C alpha. *Clinical & experimental metastasis*, *22*(5), 369–376.

Jiao, Y. F., Sugai, T., Habano, W., Uesugi, N., Takagane, A., & Nakamura, S. (2006). Clinicopathological significance of loss of heterozygosity in intestinal- and solid-type gastric carcinomas: a comprehensive study using the crypt isolation technique. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, *19*(4), 548–555

Jiffar, T., Yilmaz, T., Lee, J., Hanna, E., El-Naggar, A., Yu, D., Myers, J. N., & Kupferman, M. E. (2011). KiSS1 mediates platinum sensitivity and metastasis suppression in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene*, *30*(28), 3163–3173.

Kamat, A. M., Hahn, N. M., Efsthathiou, J. A., Lerner, S. P., Malmström, P. U., Choi, W., Guo, C. C., Lotan, Y., & Kassouf, W. (2016). Bladder cancer. *Lancet (London, England)*, *388*(10061), 2796–2810.

Kang, H. S., Baba, T., Mandai, M., Matsumura, N., Hamanishi, J., Kharma, B., Kondoh, E., Yoshioka, Y., Oishi, S., Fujii, N., Murphy, S. K., & Konishi, I. (2011). GPR54 is a target for suppression of metastasis in endometrial cancer. *Molecular cancer therapeutics*, *10*(4), 580–590.

Katagiri, F., Nagai, K., Kida, A., Tomita, K., Oishi, S., Takeyama, M., Doi, R., & Fujii, N. (2009). Clinical significance of plasma metastin level in pancreatic cancer patients. *Oncology reports*, *21*(3), 815–819.

Ke, M., Mo, L., Li, W., Zhang, X., Li, F., & Yu, H. (2017). Ubiquitin ligase SMURF1 functions as a prognostic marker and promotes growth and metastasis of clear cell renal cell carcinoma. *FEBS open bio*, *7*(4), 577–586.

Kim, J. N., Kim, T. H., Yoon, J. H., & Cho, S. G. (2018). Kisspeptin Inhibits Colorectal Cancer Cell Invasiveness by Activating PKR and PP2A. *Anticancer research*, *38*(10), 5791–5798.

Kim, T. H., & Cho, S. G. (2017). Kisspeptin inhibits cancer growth and metastasis via activation of EIF2AK2. *Molecular medicine reports*, 16(5), 7585–7590.

Klotz, L., & Brausi, M. A. (2015). World Urologic Oncology Federation Bladder Cancer Prevention Program: a global initiative. *Urologic oncology*, 33(1), 25–29.

Kostakis, I. D., Agrogiannis, G., Vaiopoulos, A. G., Mylona, E., Patsouris, E., Kouraklis, G., & Koutsilieris, M. (2018). KISS1 and KISS1R expression in gastric cancer. *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology*, 23(1), 79–84.

Kotani, M., Dethoux, M., Vandenbogaerde, A., Communi, D., Vanderwinden, J. M., Le Poul, E., Brézillon, S., Tyldesley, R., Suarez-Huerta, N., Vandeput, F., Blanpain, C., Schiffmann, S. N., Vassart, G., & Parmentier, M. (2001). The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *The Journal of biological chemistry*, 276(37), 34631–34636.

Kremer, B. E., Adang, L. A., & Macara, I. G. (2007). Septins regulate actin organization and cell-cycle arrest through nuclear accumulation of NCK mediated by SOCS7. *Cell*, 130(5), 837–850.

Kremer, J. L., Auricino, T. B., Dos Santos Passaia, B., & Lotfi, C. (2021). Upregulation of TCF21 inhibits migration of adrenocortical carcinoma cells. *Discover. Oncology*, 12(1), 23.

Kwon, A., Lee, H. L., Woo, K. M., Ryoo, H. M., & Baek, J. H. (2013). SMURF1 plays a role in EGF-induced breast cancer cell migration and invasion. *Molecules and cells*, 36(6), 548–555.

Lee, J. H., & Welch, D. R. (1997). Identification of highly expressed genes in metastasis-suppressed chromosome 6/human malignant melanoma hybrid cells using subtractive hybridization and differential display. *International journal of cancer*, 71(6), 1035–1044.

Lee, J. H., Miele, M. E., Hicks, D. J., Phillips, K. K., Trent, J. M., Weissman, B. E., & Welch, D. R. (1996). KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *Journal of the National Cancer Institute*, 88(23), 1731–1737.

Lee, J. H., & Welch, D. R. (1997). Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, KiSS-1. *Cancer research*, 57(12), 2384–2387.

Li, Z., Liu, J., Inuzuka, H., & Wei, W. (2022). Functional analysis of the emerging roles for the KISS1/KISS1R signaling pathway in cancer metastasis. *Journal of genetics and genomics = Yi chuan xue bao*, 49(3), 181–184.

Li, C., Yuan, L., Han, S., Xuan, M., Liu, D., Tian, B., & Yu, W. (2020). Reduced Kiss-1 expression is associated with clinical aggressive feature of gastric cancer patients and promotes migration and invasion in gastric cancer cells. *Oncology reports*, *44*(3), 1149–1157.

Li, T., Tian, Y., Wang, Y., Cui, Z., He, Z., Wu, X., Zhang, Y., & Jiang, H. (2022). Kiss1 Inhibits the Proliferation of Nasopharyngeal Carcinoma Cells Via Activation of the LKB1/AMPK Pathway. *Frontiers in oncology*, *11*, 724251.

Loosen, S. H., Luedde, M., Lurje, G., Spehlmann, M., Paffenholz, P., Ulmer, T. F., Tacke, F., Vucur, M., Trautwein, C., Neumann, U. P., Luedde, T., & Roderburg, C. (2019). Serum Levels of Kisspeptin Are Elevated in Patients with Pancreatic Cancer. *Disease markers*, *2019*, 5603474.

Ly, T., Harihar, S., & Welch, D. R. (2020). KISS1 in metastatic cancer research and treatment: potential and paradoxes. *Cancer metastasis reviews*, *39*(3), 739–754.

Masui, T., Doi, R., Mori, T., Toyoda, E., Koizumi, M., Kami, K., Ito, D., Peiper, S. C., Broach, J. R., Oishi, S., Niida, A., Fujii, N., & Imamura, M. (2004). Metastin and its variant forms suppress migration of pancreatic cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications*, *315*(1), 85–92.

Matthaiou, S., Kostakis, I. D., Kykalos, S., Machairas, N., Spartalis, E., Ntikoudi, E., Lambropoulou, M., Karayiannakis, A., & Machairas, N. (2018). KISS1 and KISS1R expression in primary and metastatic colorectal cancer. *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology*, *23*(3), 598–603.

McAllister, S. S., & Weinberg, R. A. (2014). The tumour-induced systemic environment as a critical regulator of cancer progression and metastasis. *Nature cell biology*, *16*(8), 717–727.

McNally, L. R., Welch, D. R., Beck, B. H., Stafford, L. J., Long, J. W., Sellers, J. C., Huang, Z. Q., Grizzle, W. E., Stockard, C. R., Nash, K. T., & Buchsbaum, D. J. (2010). KISS1 over-expression suppresses metastasis of pancreatic adenocarcinoma in a xenograft mouse model. *Clinical & experimental metastasis*, *27*(8), 591–600.

Moore, A. M., Coolen, L. M., Porter, D. T., Goodman, R. L., & Lehman, M. N. (2018). KNDy Cells Revisited. *Endocrinology*, *159*(9), 3219–3234.

Morello, S., Sorrentino, R., Porta, A., Forte, G., Popolo, A., Petrella, A., & Pinto, A. (2009). Cl-IB-MECA enhances TRAIL-induced apoptosis via the modulation of NF-kappaB signalling pathway in thyroid cancer cells. *Journal of cellular physiology*, *221*(2), 378–386.

Mousavi Ardehaie, R., Hashemzadeh, S., Behrouz Sharif, S., Ghojazadeh, M., Teimoori-Toolabi, L., & Sakhinia, E. (2017). Aberrant methylated EDNRB can act as a potential diagnostic biomarker in sporadic colorectal cancer while KISS1 is controversial. *Bioengineered*, 8(5), 555–564.

Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P et al (2001) AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 276:28969– 28975

Nagai, K., Doi, R., Katagiri, F., Ito, T., Kida, A., Koizumi, M., Masui, T., Kawaguchi, Y., Tomita, K., Oishi, S., Fujii, N., & Uemoto, S. (2009). Prognostic value of metastin expression in human pancreatic cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 28(1), 9.

Noonan, M. M., Dragan, M., Mehta, M. M., Hess, D. A., Brackstone, M., Tuck, A. B., Viswakarma, N., Rana, A., Babwah, A. V., Wondisford, F. E., & Bhattacharya, M. (2018). The matrix protein Fibulin-3 promotes KISS1R induced triple negative breast cancer cell invasion. *Oncotarget*, 9(53), 30034–30052.

Ohtaki, T., Shintani, Y., Honda, S., Matsumoto, H., Hori, A., Kanehashi, K., Terao, Y., Kumano, S., Takatsu, Y., Masuda, Y., Ishibashi, Y., Watanabe, T., Asada, M., Yamada, T., Suenaga, M., Kitada, C., Usuki, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., ... Fujino, M. (2001). Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 411(6837), 613–617

Okugawa, Y., Inoue, Y., Tanaka, K., Toiyama, Y., Shimura, T., Okigami, M., Kawamoto, A., Hiro, J., Saigusa, S., Mohri, Y., Uchida, K., & Kusunoki, M. (2013). Loss of the metastasis suppressor gene KiSS1 is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in human colorectal cancer. *Oncology reports*, 30(3), 1449–1454.

Prentice, L. M., Klausen, C., Kalloger, S., Köbel, M., McKinney, S., Santos, J. L., Kenney, C., Mehl, E., Gilks, C. B., Leung, P., Swenerton, K., Huntsman, D. G., & Aparicio, S. A. (2007). Kisspeptin and GPR54 immunoreactivity in a cohort of 518 patients defines favourable prognosis and clear cell subtype in ovarian carcinoma. *BMC medicine*, 5, 33.

Qiu, J. J., Lin, X. J., Tang, X. Y., Zheng, T. T., Zhang, X. Y., & Hua, K. Q. (2020). Long noncoding RNA TC0101441 induces epithelial-mesenchymal transition in epithelial ovarian cancer metastasis by downregulating KiSS1. *International journal of cancer*, 146(9), 2588–2598.

Ringel, M. D., Hardy, E., Bernet, V. J., Burch, H. B., Schuppert, F., Burman, K. D., & Saji, M. (2002). Metastin receptor is overexpressed in papillary thyroid cancer and activates MAP kinase in thyroid cancer cells. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 87(5), 2399.

Roa, J., Navarro, V. M., & Tena-Sempere, M. (2011). Kisspeptins in reproductive biology: consensus knowledge and recent developments. *Biology of reproduction*, 85(4), 650–660.

Sanchez-Carbayo, M., Capodieci, P., & Cordon-Cardo, C. (2003). Tumor suppressor role of KiSS-1 in bladder cancer: loss of KiSS-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome. *The American journal of pathology*, 162(2), 609–617.

Savvidis, C., Papaiconomou, E., Petraki, C., Msaouel, P., & Koutsilieris, M. (2015). The role of KISS1/KISS1R system in tumor growth and invasion of differentiated thyroid cancer. *Anticancer research*, 35(2), 819–826.

Schmidt, E., Haase, M., Ziegler, E., Emons, G., & Gründker, C. (2014). Kisspeptin-10 inhibits stromal-derived factor 1-induced invasion of human endometrial cancer cells. *International journal of gynecological cancer : official journal of the International Gynecological Cancer Society*, 24(2), 210–217.

Schmid, K., Wang, X., Haitel, A., Sieghart, W., Peck-Radosavljevic, M., Bodingbauer, M., Rasoul-Rockenschaub, S., & Wrba, F. (2007). KiSS-1 overexpression as an independent prognostic marker in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study. *Virchows Archiv : an international journal of pathology*, 450(2), 143–149.

Seven, M., Karatas, O. F., Duz, M. B., & Ozen, M. (2014). The role of miRNAs in cancer: from pathogenesis to therapeutic implications. *Future oncology (London, England)*, 10(6), 1027–1048.

Shen, Z. L., Wang, B., Jiang, K. W., Ye, C. X., Cheng, C., Yan, Y. C., Zhang, J. Z., Yang, Y., Gao, Z. D., Ye, Y. J., & Wang, S. (2016). Downregulation of miR-199b is associated with distant metastasis in colorectal cancer via activation of SIRT1 and inhibition of CREB/KISS1 signaling. *Oncotarget*, 7(23), 35092–35105.

Shengbing, Z., Feng, L. J., Bin, W., Lingyun, G., & Aimin, H. (2009). Expression of KiSS-1 gene and its role in invasion and metastasis of human hepatocellular carcinoma. *Anatomical record (Hoboken, N.J. : 2007)*, 292(8), 1128–1134.

Shirasaki, F., Takata, M., Hatta, N., & Takehara, K. (2001). Loss of expression of the metastasis suppressor gene KiSS1 during melanoma progression and its association with LOH of chromosome 6q16.3-q23. *Cancer research*, 61(20), 7422–7425.

- Shoji, S., Tang, X. Y., Umemura, S., Itoh, J., Takekoshi, S., Shima, M., Usui, Y., Nagata, Y., Uchida, T., Osamura, R. Y., & Terachi, T. (2009). Metastin inhibits migration and invasion of renal cell carcinoma with overexpression of metastin receptor. *European urology*, 55(2), 441–449.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2017). Cancer Statistics, 2017. *CA: a cancer journal for clinicians*, 67(1), 7–30.
- Skorupskaite, K., George, J.T. & Anderson, R.A., 2014. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Human Reproduction Update*, 20(4), pp. 485-500.
- Song, G. Q., & Zhao, Y. (2015). Kisspeptin-10 inhibits the migration of breast cancer cells by regulating epithelial-mesenchymal transition. *Oncology reports*, 33(2), 669–674.
- Song, G. Q., & Zhao, Y. (2016). Kisspeptin 10 inhibits the Warburg effect in breast cancer through the Smad signaling pathway: both in vitro and in vivo. *American journal of translational research*, 8(1), 188–195.
- Sørensen, A. B., Warming, S., Füchtbauer, E. M., & Pedersen, F. S. (2002). Alternative splicing, expression, and gene structure of the septin-like putative proto-oncogene Sint1. *Gene*, 285(1-2), 79–89.
- Stathaki, M., Stamatiou, M. E., Magioris, G., Simantiris, S., Syrigos, N., Dourakis, S., Koutsilieris, M., & Armakolas, A. (2019). The role of kisspeptin system in cancer biology. *Critical reviews in oncology/hematology*, 142, 130–140.
- Stubendorff, B., Wilhelm, K., Posselt, K., Catto, J., Hartmann, A., Bertz, S., Füssel, S., Novotny, V., Toma, M., Gajda, M., Lehmann, J., Wunderlich, H., Grimm, M. O., Stöckle, M., & Junker, K. (2019). A three-gene methylation marker panel for the nodal metastatic risk assessment of muscle-invasive bladder cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 145(4), 811–820.
- Sun, W., Li, S., Yu, Y., Jin, H., Xie, Q., Hua, X., Wang, S., Tian, Z., Zhang, H., Jiang, G., Huang, C., & Huang, H. (2019). MicroRNA-3648 Is Upregulated to Suppress TCF21, Resulting in Promotion of Invasion and Metastasis of Human Bladder Cancer. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 16, 519–530.
- Tomita, K., Oishi, S., Cluzeau, J., Ohno, H., Navenot, J. M., Wang, Z. X., Peiper, S. C., Akamatsu, M. & Fujii, N. (2007). SAR and QSAR Studies on the N-Terminally Acylated Pentapeptide Agonists for GPR54. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(14), 3222-3228.

- Uno, M., Kokuryo, T., Yokoyama, Y., Senga, T., & Nagino, M. (2016). α -Bisabolol Inhibits Invasiveness and Motility in Pancreatic Cancer Through KISS1R Activation. *Anticancer research*, 36(2), 583–589.
- Uthaisar, K., Vaeteewoottacharn, K., Seubwai, W., Talabnin, C., Sawanyawisuth, K., Obchoei, S., Kraiklang, R., Okada, S., & Wongkham, S. (2016). Establishment and characterization of a novel human cholangiocarcinoma cell line with high metastatic activity. *Oncology reports*, 36(3), 1435–1446.
- Wang, C. H., Qiao, C., Wang, R. C., & Zhou, W. P. (2016). KiSS-1-mediated suppression of the invasive ability of human pancreatic carcinoma cells is not dependent on the level of KiSS-1 receptor GPR54. *Molecular medicine reports*, 13(1), 123–129.
- Wang, G. M., Liu, J. F., Zhang, L., Sun, Q., Zhou, Y., Xu, H. B., Zhang, Y. J., Cai, F., Cheng, Z. N., Xiang, P., & Jiang, H. (2019). Inhibition of KiSS-1 on metastasis of nasopharyngeal carcinoma implant tumor in nude mice. *American journal of translational research*, 11(2), 904–910.
- Wang, H., Jones, J., Turner, T., He, Q. P., Hardy, S., Grizzle, W. E., Welch, D. R., & Yates, C. (2012). Clinical and biological significance of KISS1 expression in prostate cancer. *The American journal of pathology*, 180(3), 1170–1178.
- Wang, F. S., Chen, H., Wu, Z. Y., & Lin, J. H. (2011). KISS1 expression in osteosarcoma: high in chinese clinical cases, but lower in cell lines. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*, 12(12), 3229–3234.
- Wang, X. Q., Fang, P. F., Zhang, C., Xu, Y. Y., Song, X. B., Liang, J., & Xia, Q. R. (2019). Low KISS1 expression predicts poor prognosis for patients with colorectal cancer: A meta-analysis. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 46(7), 625–634.
- Wang, Y., Jiang, R., Wang, Q., Li, Y., Sun, Z., & Zhao, H. (2021). Silencing LINC01021 inhibits gastric cancer through upregulation of KISS1 expression by blocking CDK2-dependent phosphorylation of CDX2. *Molecular therapy. Nucleic acids*, 24, 832–844.
- Watt, L. F., Panicker, N., Mannan, A., Copeland, B., Kahl, R. G. S., Dun, M. D., Young, B., Roselli, S., & Verrills, N. M. (2017). Functional importance of PP2A regulatory subunit loss in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 166(1), 117–131.
- West, A., Vojta, P. J., Welch, D. R., & Weissman, B. E. (1998). Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1). *Genomics*, 54(1), 145–148.

Xoxakos, I., Petraki, C., Msaouel, P., Armakolas, A., Grigorakis, A., Stefanakis, S., & Koutsilieris, M. (2020). Expression of Kisspeptin (KISS1) and its Receptor GPR54 (KISS1R) in Prostate Cancer. *Anticancer research*, *40*(2), 709–718.

Yan, C., Su, H., Song, X., Cao, H., Kong, L., & Cui, W. (2018). Smad Ubiquitination Regulatory Factor 1 (Smurf1) Promotes Thyroid Cancer Cell Proliferation and Migration via Ubiquitin-Dependent Degradation of Kisspeptin-1. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, *49*(5), 2047–2059.

Yilmaz, M. B., Oksuz, H., Ilgaz, N. S., Ocal, I., & Tazehkand, M. N. (2018). The role of kisspeptin on aromatase expression in breast cancer. *Bratislavske lekarske listy*, *119*(12), 776–780. https://doi.org/10.4149/BLL_2018_141

Yin, Y., Tang, L., & Shi, L. (2017). The metastasis suppressor gene KISS-1 regulates osteosarcoma apoptosis and autophagy processes. *Molecular medicine reports*, *15*(3), 1286–1290.

Zanjac, M., Law, J., Cvetkovic, D. D., Pampillo, M., McColl, L., Pape, C., Di Guglielmo, G. M., Postovit, L. M., Babwah, A. V., Bhattacharya, M. (2011) GPR54 (KiSS-1R) transactivates EGFR to promote breast cancer cell invasiveness. *PLoS One* 6, e21599.

Zhang, H., Guo, Y., Shang, C., Song, Y., & Wu, B. (2012). miR-21 downregulated TCF21 to inhibit KISS1 in renal cancer. *Urology*, *80*(6), 1298–302.e1.

Zhang, Y., Huang, Z., Zhu, Z., Zheng, X., Liu, J., Han, Z., Ma, X., & Zhang, Y. (2014). Upregulated UHRF1 promotes bladder cancer cell invasion by epigenetic silencing of KiSS1. *PloS one*, *9*(10), e104252.

Zhang, Y., Tang, Y. J., Li, Z. H., Pan, F., Huang, K., & Xu, G. H. (2013). KiSS1 inhibits growth and invasion of osteosarcoma cells through inhibition of the MAPK pathway. *European journal of histochemistry : EJH*, *57*(4), e30.

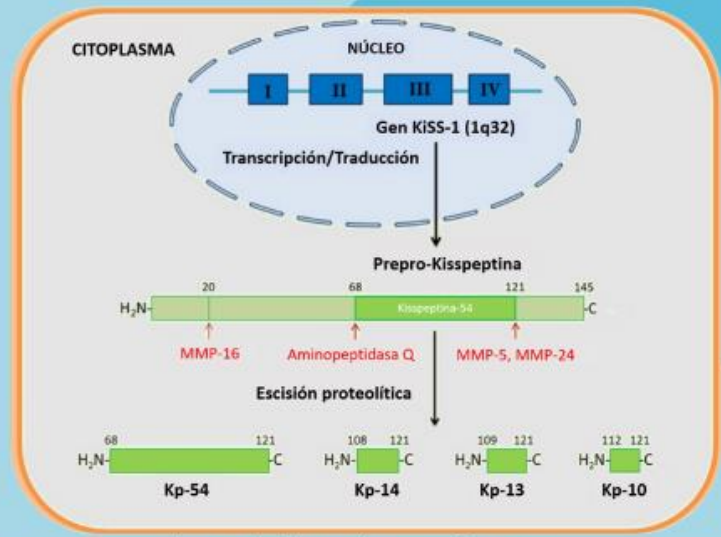
Zhang, Y. X., Cui, H. X., Liu, L., & Yi, G. K. (2019). Long non-coding RNA MNX1-AS1 promoted osteosarcoma proliferation and invasion via inhibiting KISS1. *European review for medical and pharmacological sciences*, *23*(14), 6045–6052.

Zhu, C., Takasu, C., Morine, Y., Bando, Y., Ikemoto, T., Saito, Y., Yamada, S., Imura, S., Arakawa, Y., & Shimada, M. (2015). KISS1 Associates with Better Outcome via Inhibiting Matrix Metalloproteinase-9 in Colorectal Liver Metastasis. *Annals of surgical oncology*, *22* Suppl 3, S1516–S1523.

Zhu, N., Zhao, M., Song, Y., Ding, L., & Ni, Y. (2020). The KiSS-1/GPR54 system: Essential roles in physiological homeostasis and cancer biology. *Genes & diseases*, 9(1), 28–40.

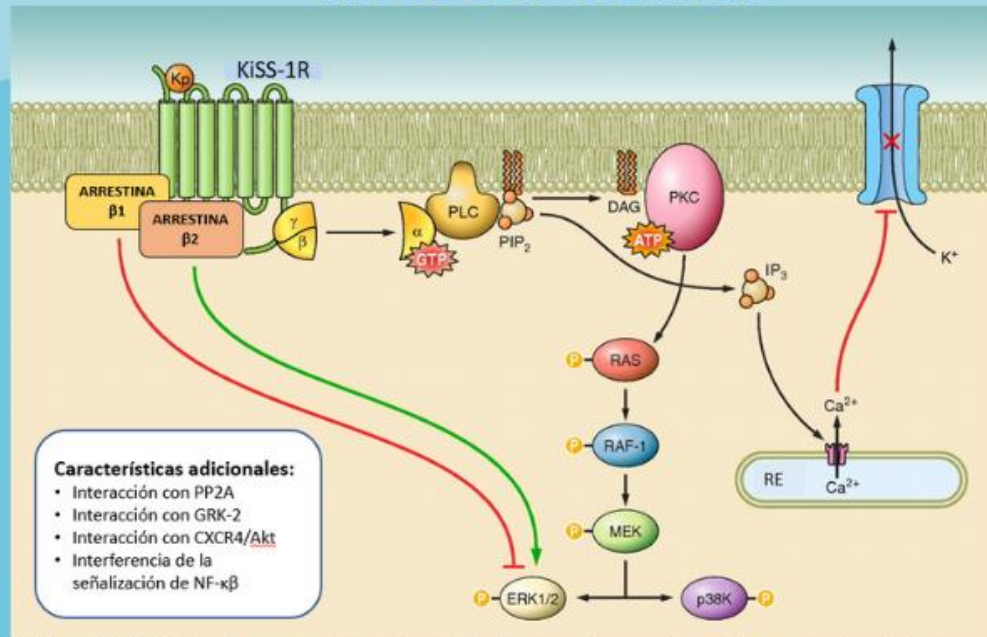
EL PAPEL DEL SISTEMA KISSPEPTINA EN LA BIOLOGÍA DEL CÁNCER

POR EMILIO ERNESTO HERNÁNDEZ GONZÁLEZ



El gen *KiSS-1* codifica una proteína que es procesada en péptidos más pequeños, pero biológicamente activos llamados kisspeptinas (*KiSS-1*), las cuales señalizan a través del receptor acoplado a proteína G llamado *KiSS-1R*. El primer papel reportado de *KiSS-1* fue el de la supresión de metástasis en el melanoma. Desde entonces, se ha hecho evidente que este sistema participa en el desarrollo y progresión de varios tipos de cáncer. Curiosamente, mientras que estas moléculas actúan como supresores tumorales y de metástasis en varios tipos de cáncer, en mama e hígado actúan como promotores.

VÍA DE SEÑALIZACIÓN



La activación de *KiSS-1* recluta arrestina β-1 y β-2 a la membrana plasmática, a través de interacciones con secuencias del segundo bucle intracelular y la cola citoplasmática. Arrestina-2 es requerida para una correcta señalización de *KiSS-1R* a ERK1/2, tras la estimulación con Kp-10. En contraste, arrestina β-1 parece inhibir la señalización de ERK1/2, lo que sugiere una vía independiente de la proteína G. La evidencia más reciente sugiere la participación de las KPs en vías que no involucran arrestinas, lo que conduce a la inhibición de AKT y la activación de las MAPKs p38 y la liberación de ácido araquidónico.

PROMOTOR DE METÁSTASIS

HEPATOCARCINOMA

A la fecha pocos estudios han examinado el papel de KiSS-1/KiSS-1R en HCC y los resultados son contradictorios. Ikeguchi y colaboradores, en 2003 demostraron por primera vez que KiSS-1/KiSS-1R se encontraban sobreexpresados en muestras quirúrgicas, comparadas con tejido no canceroso, asociándose de manera positiva con la progresión y mal pronóstico. Schmid y colaboradores, en 2007, informaron que en pacientes con trasplante de hígado tuvieron un peor resultado clínico, asociado con la expresión elevada de Kp-54 según los ensayos de inmunohistoquímica.

CÁNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIVO

Abarcando poco más de una década, varios estudios han resaltado un papel perjudicial de KiSS-1/KiSS-1R en cáncer de mama. Se ha demostrado que en triple negativo los niveles se encontraban elevados en carcinoma ductal invasivo ERα-negativo comparados con los positivos, demostrando una correlación positiva con la progresión tumoral. Además, la metástasis en nódulos linfáticos también exhibía altos niveles de KiSS-1. Mediante inmunohistoquímica, se ha observado que los niveles de tinción eran superiores en carcinoma ductal *in situ* e invasivo, comparados con tejido normal. Estos resultados se suman a que los pacientes con alta expresión de KiSS-1/KiSS-1R tenían supervivencia libre de recaída más corta.

SUPRESOR DE METÁSTASIS

IN VITRO

- Existen 15 tipos de cáncer en los cuales se ha observado un papel benéfico del complejo KiSS-1/KiSS-1R. En cáncer colorrectal y otros 6 tipos, disminuyó el potencial invasivo reduciendo la expresión de MMP-9, bloqueando la señalización de PI3K, AKT o NF- κ B, en su mayoría a través de este último.
- En 3 tipos de cáncer fue capaz de inducir apoptosis, observándose en osteosarcoma un aumento en los niveles de Beclina-1, caspasa-3, Bax y LC3.
- KiSS-1 ha logrado tener efectos sobre el crecimiento celular en cáncer de próstata a través de EIF2AK2.
- Se ha observado una correlación negativa entre los niveles de KiSS-1 y la proliferación celular en cáncer tiroides, gástrico, nasofaríngeo y osteosarcoma

IN VIVO

- **Cáncer de endometrio:** Reduce metástasis linfáticas.
- **Vejiga:** Reduce la tasa metastásica.
- **Carcinoma de cabeza y cuello:** Suprime el crecimiento tumoral en modelos animales.
- **Carcinoma nasofaríngeo:** Ralentiza el crecimiento celular.
- **Mesotelioma:** El tratamiento anti metastásico con FTM080 es efectivo en ratones, de manera dosis- dependiente.

Observaciones finales y perspectiva

El sistema KiSS-1/KiSS-1R claramente participa de manera importante en la progresión del cáncer. Sin embargo, el papel que estas moléculas juegan es específico del contexto del cáncer. Los tratamientos basados en KiSS-1 serían teóricamente sencillos siempre que las células tumorales expresen el receptor KiSS-1R, desafortunadamente los datos de varios estudios demuestran que la pérdida en la expresión se acentúa conforme los estadios avanzan.

Es importante promover la detección temprana del cáncer para aumentar la supervivencia y selección del tratamiento más adecuado.

FUENTES DE INFORMACIÓN:

- Caramella, V., Della Corte, C. M., Ciardiello, F., & Moergillo, F. (2018). Kisspeptin and Cancer: Molecular Interaction, Biological Functions, and Future Perspectives. *Frontiers in endocrinology*, 9, 115.
- Farooqi, A. A., Attar, R., Bageshlooyafshar, B., Sabitaliyevich, U. Y., Nurmurazayevich, S. B., Yelkenova, A. B., & Gormus, U. (2019). Regulation of Kisspeptin mediated signaling by non-coding RNAs in different cancers: the beginning of a new era. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 65(3), 72-75.
- Guzman, S., Brackstone, M., Radovick, S., Babwah, A. V., & Bhattacharya, M. M. (2018). KISS1/KISS1R in Cancer: Friend or Foe?. *Frontiers in endocrinology*, 9, 437.
- Stathaki, M., Stamatou, M. E., Magioris, G., Simantrjis, S., Syrigos, N., Dourakis, S., Koutallieris, M., & Armakolas, A. (2019). The role of kisspeptin system in cancer biology. *Critical reviews in oncology/hematology*, 142, 130-146.