



Alteraciones epigenéticas en la progresión del cáncer cervicouterino

Magdalena Ríos-Romero,^a Ana Guadalupe Soto-Valladares,^a Patricia Piña-Sánchez^a

Epigenetic alterations in cervical cancer progression

Despite the use of the screening test, such as Papanicolaou, and the detection of human papillomavirus (HPV), cervical cancer remains as a public health problem in México and it is the second leading cause of death for malignant neoplasias among women. High-risk HPV infection is the main risk factor for the development of premalignant lesions and cervical cancer; however, HPV infection is not the only factor; there are various genetic and epigenetic alterations required for the development of neoplasias; some of them have been described and even in some cases they have been suggested as biomarkers for prognosis. However, in contrast with other cancer types, such as breast cancer, in cervical cancer the use of biomarkers has not been established for clinical applications. Unlike genetic alterations, epigenetic alterations are potentially reversible; in this sense, their characterization is important, since they have not only a potential use as biomarkers, but they also could represent new therapeutic targets for treatment of cervical cancer. This review describes some of the more common epigenetic alterations in cervical cancer and its potential use in routine clinical practice.

Keywords	Palabras clave
Cervical cancer	Cáncer cervicouterino
Epigenetics	Epigenética
Biomarkerr	Biomarcadores

Cáncer cervicouterino

El cáncer cervicouterino (CaCU) es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en mujeres en México, por lo cual continúa siendo un problema de salud pública. En 2011 el CaCU representó 10.4 % del total de muertes por neoplasias malignas en nuestro país.¹ El CaCU es precedido de lesiones preneoplásicas conocidas como lesiones epiteliales escamosas de bajo grado (LEBG) y lesiones epiteliales escamosas de alto grado (LEAG), según la clasificación de Bethesda, o neoplasia intraepitelial grado I, II y III según la clasificación de Richard.² Su principal factor etiológico es la infección persistente de virus de papiloma humano (VPH) de alto potencial oncogénico.³ Sin embargo, la infección por sí sola no es suficiente para el desarrollo de CaCU, ya que muchas mujeres pueden estar infectadas con VPH y no desarrollar cáncer, por lo que otros cofactores participan en desarrollo de esta neoplasia.⁴ El cáncer es considerado como un conjunto de enfermedades asociadas a diversas alteraciones genéticas. En el CaCU se han caracterizado un gran número de alteraciones genéticas, como las aberraciones cromosómicas, en las que destacan las ganancias en las regiones 3q21-q22, 5p15.2, y 5p13, así como pérdidas en las regiones cromosómicas 3p12, 3p14.2, 13q14, entre otras.^{5,6} Respecto a los perfiles globales de expresión, se han identificado genes de la vía Wnt.⁷

Sin embargo, el cáncer no es un producto exclusivo de alteraciones genéticas. Desde inicios de la década de los ochenta se reportaron alteraciones epigenéticas en el cáncer. Algunos eventos, como la hipermetilación de regiones promotoras, participan en la iniciación y la progresión de diversos tipos de cáncer, y se consideran un mecanismo clásico de inactivación de genes supresores de tumor.⁸ Actualmente se considera que las alteraciones en expresión y las mutaciones pueden derivar de alteraciones epigenéticas, cuyas consecuencias funcionales pueden ser equivalentes a las generadas por alteraciones genéticas.⁹

Alteraciones epigenéticas en el CaCU

La epigenética es el estudio de los cambios heredables en la expresión génica que no involucran alteraciones en la secuencia del DNA. Se conocen cuatro modificaciones epigenéticas que se encuentran íntimamente

^aUnidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas, Laboratorio de Oncología Molecular, Hospital de Oncología, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Distrito Federal, México

Comunicación con: Patricia Piña-Sánchez
Teléfono: (55) 2454 6476
Correo electrónico: 1307patricia@gmail.com

Recibido: 22/10/2014

Aceptado: 15/05/2015

A pesar del empleo de los métodos de tamizaje como el Papanicolaou y la detección de virus del papiloma humano (VPH), el cáncer cervicouterino (CaCU) sigue siendo un problema de salud pública en México, ya que es la segunda causa de muerte por neoplasias malignas en mujeres. La infección por VPH de alto potencial oncogénico es el principal factor de riesgo para el desarrollo de lesiones precursoras y CaCU; sin embargo, no es suficiente, dado que se requiere de diversas alteraciones genéticas y epigenéticas para el desarrollo de la neoplasia y un gran número de ellas han sido descritas, incluso en algunos casos se ha

sugerido su uso como biomarcadores en la progresión o predictivos de respuesta. A diferencia de lo que sucede con otros tipos de cáncer, como el de mama, en el CaCU no se ha establecido el uso de marcadores para su aplicación en la clínica. A diferencia de las alteraciones genéticas, las alteraciones epigenéticas son potencialmente reversibles y su caracterización no solo tiene potencial para el uso como biomarcadores, sino como blancos de nuevas terapias. En esta revisión se describen algunas de las alteraciones epigenéticas más características en el CaCU, con potencial uso para la clínica.

Resumen

relacionadas entre sí: la metilación del DNA, las modificaciones en histonas, la impronta génica y la regulación mediada por RNAs no codificantes (figura 1).¹⁰ Gran parte de la investigación en epigenética se enfoca en cambios en la estructura de la cromatina, como la metilación del DNA y las modificaciones en histonas.

Metilación del DNA

La metilación del DNA es la principal modificación en genomas eucariontes. Consiste en la adición covalente de un grupo metilo (CH₃) al carbono 5 de las citosinas en el contexto de dinucleótidos CpG, mediante DNA metil transferasas (DNMT). Las islas CpG (ICG) (regiones ricas en GpC asociadas a promotores de genes, de por lo menos 200 pb de longitud) participan en la regulación de la expresión. Se calcula que aproximadamente de 60 a 70 % de los genes humanos poseen ICG en sus regiones regulatorias. En condiciones normales, las ICG están protegidas de la metilación, lo cual está asociado con una configuración abierta de la cromatina, caracterizada por la presencia de histonas acetiladas.¹¹

La hipermetilación a nivel local está relacionada generalmente con el silenciamiento del gen asociado. El incremento en la metilación del DNA provoca un impedimento en la unión de factores de transcripción y por lo tanto la regulación negativa de la expresión del gen. La hipermetilación es un fenómeno clásico de inactivación de genes supresores de tumor (como *Rb*, *VHL*, *CDKN2*, *BRCA*, *APC* y *GSTP1*) que están asociados al desarrollo de cáncer.¹² En algunos tipos de cáncer, como el de mama y el de colon y recto, se ha sugerido que existe un “fenotipo metilador de ICG”, en el que múltiples genes en las células malignas se encuentran frecuentemente metilados; esto, asociado a características clínicas particulares, podría servir como base para clasificar distintos subtipos tumorales.¹³ Se ha observado que algunos de los genes que forman parte de este fenotipo constituyen

supresores de tumor clásicos, como *p16*, *MLH1*, *APC* y *HIC1*, entre otros.¹⁴

Se han descrito un gran número de genes cuyo perfil de metilación es diferencial, al comparar epitelio sin alteraciones neoplásicas con lesiones precursoras o CaCU. Sin embargo, solo algunos son consistentemente metilados en diversos estudios: *DAPK1*, *RASSF1*, *CDH1*, *CDKN2A*, *MGMT*, *RARB*, *APC*, *FHIT*, *MLH1*, *TIMP3*, *GSTP1*, *CADMI*, *CDH13*, *HIC1* y *TERT*; algunos de estos datos provienen de estudios globales de metilación que tenían por objetivo identificar nuevos marcadores asociados a CaCU.¹⁵ La hipermetilación de *SOX* y *WT1* en epitelios sin alteraciones neoplásicas se asocia al desarrollo de lesiones precursoras,¹⁶ mientras que la hipermetilación de *hTERT* en lesiones precursoras se asocia con la progresión a CaCU.¹⁷ Se ha sugerido que la hipermetilación de genes como *BRCA1* y *RARBeta* puede ser utilizada como marcador predictivo de mal pronóstico en CaCU, debido a la falla en la respuesta a tratamiento basado en radioterapia.¹⁸ También se sugiere que *DAPK* y *FAS* son predictores de respuesta a radio y quimioterapia, ya que pacientes con una mala respuesta a terapia presentaron mayores índices de metilación que las pacientes con una buena respuesta.¹⁹

En el cáncer, el genoma se encuentra hipometilado a nivel global; se ha demostrado que la inactivación de *DNMT3* genera inestabilidad cromosómica e inmortalización.²⁰ En este sentido, se ha asociado a la hipometilación global con la progresión de lesiones precursoras a CaCU.²¹ Sin embargo, a pesar de que la hipometilación fue la primera alteración epigenética descrita en el cáncer, esta no está tan extensivamente estudiada como el fenómeno de hipermetilación.

Código de histonas

Las histonas están organizadas en octámeros formados por tres tipos de histonas: H2A, H2B, y H3 y H4. Las

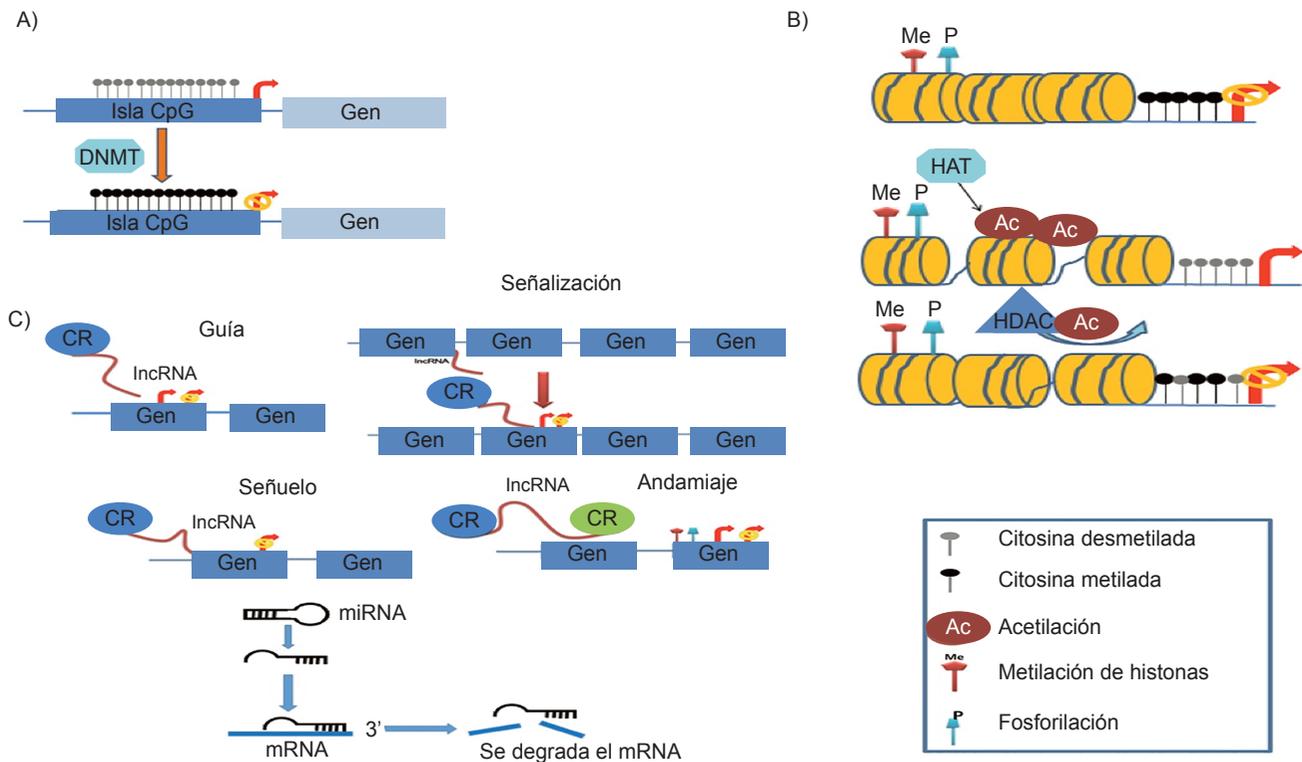


Figura 1. Los tres mecanismos principales de regulación epigenética. A) Mecanismo de silenciamiento de genes por metilación. Las enzimas de la familia DNMT metilan sitios CpG. Esta metilación está generalmente asociada a la represión transcripcional. En contraste, la desmetilación de estos sitios facilita la expresión génica. B) Mecanismo de apertura y cierre de la cromatina por acetilación y desacetilación de histonas. Las modificaciones de histonas provocan cambios en su interacción con el DNA, lo cual se asocia con la expresión o represión de genes. C) Los lncRNAs pequeños o largos regulan la expresión de RNAs codificantes por degradación o por interacción directa en el locus génico

histonas tienen una región amino-terminal rica en residuos de lisinas (K), que son susceptibles a modificaciones post-traduccionales, de las cuales la metilación y la acetilación son las más estudiadas. Estas modificaciones afectan la interacción DNA-histonas, lo cual conduce a cambios en la transcripción de genes, la reparación del DNA, la replicación del DNA y la organización de los cromosomas.⁸ El conjunto de modificaciones en las histonas constituye un código que indica si esa región de la cromatina debe activarse o inactivarse. Existen ejemplos bien caracterizados de marcas de histonas asociadas a la apertura o cierre de la cromatina, como la acetilación de la lisina 9 en la histona 4 (H4K9 ac), que se asocia a una transcripción activa de genes, y la trimetilación de la lisina 27 en la histona 3 (H3K27me3), que se asocia a una represión de la transcripción. El modelo del código de histonas propone que la combinación de estas marcas promueve un fenotipo de activación o silenciamiento y no las modificaciones individuales.²²

En lesiones precursoras, se describieron alteraciones en las formas fosforiladas y acetiladas de la histona H3 asociadas a la progresión de NIC I a NIC II y de NIC II a NIC III.²³ El gen *RARBeta2* se ha encontrado silenciado debido a la metilación de su promotor; sin embargo, se ha reportado su silenciamiento asociado a la desaceti-

lación de H3 y H4 y a la reducción de los niveles de H3me2K4 y a altos niveles de H3me2K9, independientemente de la hipermetilación de su promotor.²⁴ Variantes de histonas tales como H2AX son fosforiladas (Ser139) en respuesta a rompimientos de DNA de doble cadena; estudios *in vivo* han sugerido la presencia de *g-H2AX* como predictor de respuesta en el tratamiento de tumores con cisplatino y radioterapia; sin embargo, estos estudios están aún en fase de experimentación.²⁵

RNA no codificantes

Los RNA no codificantes (ncRNA) constituyen un gran grupo de RNA que no se traducen a proteínas. De acuerdo con su tamaño se dividen en dos grandes grupos: los ncRNA pequeños de 20-200 nt, que están constituidos por los miRNA, siRNA, piRNA y están involucrados en la regulación de la estabilidad y eficiencia de la traducción de mRNA; y los ncRNA largos (lncRNA) de más de 200 nt, que tienen funciones como reguladores de la transcripción mediante el reclutamiento de complejos remodeladores de la cromatina.²⁶

Los miRNA son secuencias de RNA de 22 nt, cuya función es regular la expresión génica a nivel pos-

transcripcional, inhibiendo la traducción de proteínas, mediante su unión al extremo 3'UTR de RNAm. Un gran número de reportes se han publicado en cuanto a su biogénesis, procesamiento, anotación, función, así como en relación con su papel en enfermedades como el cáncer. La base de datos Mirbase (www.mirbase.org) reporta 1872 miRNA en humanos. Los perfiles de expresión de los miRNA en cáncer se proponen como huellas asociadas con el diagnóstico, estadio, progresión, pronóstico y respuesta a tratamiento.²⁷ En particular en el CaCU existe abundante información sobre alteraciones en la expresión de los miRNA. Por ejemplo Pereira *et al.*²⁸ identificaron que en las secuencias miR-143, miR-145, miR-99a, miR-26a, miR-203, miR-513, miR-29a y miR-199a está significativamente disminuida la expresión en lesiones precursoras y CaCU con respecto a las muestras normales; en contraste con miR-148a, miR-302b, miR-10a, miR-196a y miR-132, los cuales están sobreexpresados. Por otra parte, se ha determinado que la sobreexpresión de miR-375 y miR-224 está asociada a la resistencia adquirida a paclitaxel²⁹ y a pobre pronóstico,³⁰ respectivamente, por lo que su validación es importante para su uso como potenciales marcadores de progresión y respuesta a terapia. En particular se ha evaluado la expresión de los miRNA en relación con la infección de VPH, en la que se sugiere la desregulación en la expresión del cluster miR-15/16, la familia miR-17-92, miR-21, miR-23b y miR-34^a vía E6-p53; y del cluster miR-106b/93/25 vía E7-pRb.³¹

Al igual que los miRNA, los lncRNA han sido asociados a diversos tipos de cáncer, entre ellos, de colon, de vejiga, de mama, hepatocelular, el neuroblastoma, de próstata, la leucemia, de tiroides y recientemente al CaCU.³² Uno de los primeros estudios en los que se reportaron alteraciones en la expresión de lncRNA involucró al gen improntado *H19*; posteriormente, se identificaron aberraciones en el *imprinting* o deleciones en 58 % de los casos de CaCU, por lo que se sugería su participación en la progresión tumoral.³³ En modelos celulares (CasKi), el lncRNA MALAT1 participa en eventos como la apoptosis, ya que su expresión se asocia con la regulación de caspasa 3, caspasa 8, Bax, y BclXL.³⁴ Landerer *et al.*³⁵ reportaron baja expresión de los lncRNA mitocondriales ASncmtRNAs-1 y ASncmtRNAs-2 y sugirieron su implicación en la transformación y progresión neoplásica. Después, se identificaron lncRNA diferencialmente expresados en lesiones precursoras, pero no están del todo caracterizados.³⁶

Biomarcadores y terapias epigenéticas en cáncer

La detección de las alteraciones epigenéticas puede utilizarse para el diagnóstico, pronóstico y respuesta

a terapia en diversos tipos de cáncer. Se estima que el silenciamiento por metilación se encuentra 10 veces más representado que la inactivación por mutación génica.³⁷ En gliomas de bajo grado y en glioblastoma, la metilación de MGMT se utiliza como marcador de respuesta a temozolamida.³⁸

Aunque el uso de algunos biomarcadores epigenéticos en cáncer está bien sustentado (por ejemplo MGMT en glioblastomas), las marcas de histonas y la expresión de lncRNA han sido poco estudiadas en cáncer en general y en particular en el CaCU. La metilación del DNA, el ncRNA y los códigos de histonas está estrechamente relacionada, por lo que la integración de estos fenómenos en los procesos de transformación y progresión es importante no solo en el contexto de su uso como biomarcadores, sino en el entendimiento de los procesos que conducen al cáncer. Dado que en el CaCU no existen biomarcadores bien establecidos (como en el caso del cáncer de mama o el de próstata), es necesario estudiar moléculas candidatas que sean capaces de predecir factores clínicos como la progresión, la sobrevida y la respuesta a la terapia. Hasta ahora hemos descrito evidencias que apoyan un papel relevante de las alteraciones epigenéticas en el CaCU y que constituyen un fenómeno temprano y general en estos tumores. Estas características las convierten en un blanco ideal para el desarrollo de nuevos biomarcadores y de nuevas terapias.

Tratamiento del CaCU y perspectiva desde un abordaje epigenético

A diferencia de los marcadores genéticos, las marcas epigenéticas son potencialmente reversibles. La Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos aprobó dos fármacos que inducen hipometilación: la 5-azacitidina y la decitabina (5 aza deoxicitidina). Ambos fármacos inhiben la DNMT1 y se le unen estequiométricamente, lo cual impide que lleve a cabo la reacción enzimática de metilación.³⁹ La 5-azacitidina y la decitabina son fármacos frecuentemente utilizados como tratamientos de última línea para pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) y síndrome mielodisplásico (MDS). Por otro lado, los inhibidores de HDAC son otro tipo de fármacos que han sido probados en la clínica para el tratamiento de neoplasias hematológicas. Un ejemplo de estos es el Vorinostat, que fue aprobado en el 2007 por la FDA para tratar el linfoma cutáneo avanzado de células T (CTCL).⁴⁰

Se ha sugerido que la combinación de fármacos desmetilantes e inhibidores de las HDAC, como el ácido valpróico, podría incrementar la respuesta clínica, ya que esto conduce a la reexpresión de genes que anteriormente estaban silenciados, así como a la

sensibilización de células tumorales al tratamiento con otros agentes quimioterapéuticos o radioterapia.⁴¹

Algunos ensayos clínicos han mostrado un beneficio de la terapia epigenética basada en ácido valproico e hidralazina en pacientes con CaCU en etapas avanzadas. En esos ensayos se ha aseverado una mejor supervivencia, libre de progresión (media 10 meses) respecto al grupo control (media 6 meses); sin embargo, las características moleculares asociadas a dicha respuesta no se han caracterizado.⁴²

Por otra parte, existen algunos estudios en fase clínica que evalúan el uso de los RNA antisentido en el tratamiento de tumores sólidos, como trabedersen, que se evaluó en un estudio fase II para el tratamiento de glioblastomas,⁴³ y oblimersen, cuyo blanco es la familia BCL-2 y ha sido utilizado en pacientes con cáncer de mama.⁴⁴ Actualmente se desarrollan varios ensayos *in vitro* para evaluar la inhibición de algunos ncRNA, como miR-214, como medida para incrementar la sensibilidad al cisplatino, así como el uso de ribozimas dirigidas contra el VPH;⁴⁵ sin embargo a la fecha no se han publicado ensayos clínicos en los que los ncRNA sean evaluados como blancos terapéuticos en el CaCU.

Conclusiones y perspectivas

Las alteraciones epigenéticas abarcan múltiples fenómenos que en conjunto contribuyen a la carcinogéne-

sis del CaCU. La evidencia de los últimos años sugiere que estas alteraciones pueden utilizarse como marcadores de pronóstico clínico o predictivo. La lista de genes hipermetilados en cáncer con potencial uso en la clínica continúa creciendo, lo cual sugiere que es un fenómeno prevalente y podría utilizarse de manera más extensa en diversas neoplasias. Una de las tendencias hacia las que se dirige la investigación en este campo es la relacionada con evaluar múltiples marcadores epigenéticos en paralelo, lo cual incrementa considerablemente la sensibilidad y la especificidad de estos y, por lo tanto, su valor predictivo o pronóstico. La integración de la información epigenética generada en la investigación básica y clínica será fundamental para mejorar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de neoplasias como el cáncer cervicouterino.

Agradecimientos

Al doctor Luis Felipe Jave Suárez y a la doctora Guadalupe Martínez Silva por la revisión y las sugerencias a este trabajo.

Declaración de conflicto de interés: las autoras han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

1. <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanolprerensa/contenidos/estadisticas/2011/cancer11.asp?s=inegi>
2. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda system: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287(16):2114-9.
3. Zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(9):690-8.
4. Castellsagué X, Muñoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis-role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;(31):20-8.
5. Hidalgo A, Baudis M, Petersen I, Arreola H, Piña P, Vázquez-Ortiz G, et al. Microarray comparative genomic hybridization detection of chromosomal imbalances in uterine cervix carcinoma. *BMC Cancer*. 2005;5:77.
6. Lando M, Wilting SM, Snipstad K, Clancy T, Bierkens M, Aarnes EK, et al. Identification of eight candidate target genes of the recurrent 3p12-p14 loss in cervical cancer by integrative genomic profiling. *J Pathol*. 2013;230(1):59-69.
7. Pérez-Plasencia C, Vázquez-Ortiz G, López-Romero R, Piña-Sánchez P, Moreno J, Salcedo M. Genome wide expression analysis in HPV16 cervical cancer: identification of altered metabolic pathways. *Infect Agent Cancer*. 2007;2:16.
8. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell*. 2007;128(4):683-92.
9. Sawan C, Vaissière T, Murr R, Herceg Z. Epigenetic drivers and genetic passengers on the road to cancer. *Mutat Res*. 2008 Jul 3;642(1-2):1-13.
10. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature*. 2007;447(7143):396-8.
11. Tazi, J, Bird A. Alternative chromatin structure at CpG islands. *Cell*. 1990;60:909-20.
12. Esteller M. CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future. *Oncogene*. 2002;21(35):5427-40.
13. Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(12):988-93.
14. Mulero-Navarro S, Esteller M. Epigenetic biomarkers for human cancer: the time is now. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008;68(1):1-11.
15. Wentzensen N, Sherman ME, Schiffman M, Wang SS. Utility of methylation markers in cervical cancer early detection: appraisal of the state-of-the-science. *Gynecol Oncol*. 2009;112(2):293-9.
16. Teschendorff AE, Jones A, Fiegl H, Sargent A, Zhuang JJ, Kitchener HC, et al. Epigenetic variabil-

- ity in cells of normal cytology is associated with the risk of future morphological transformation. *Genome Med.* 2012;4(3):24.
17. Iliopoulos D, Oikonomou P, Messinis I, Tsezou A. Correlation of promoter hypermethylation in hTERT, DAPK and MGMT genes with cervical oncogenesis progression. *Oncol Rep.* 2009;22(1):199-204.
 18. Narayan G, Arias-Pulido H, Koul S, Vargas H, Zhang FF, Vilella J, et al. Frequent promoter methylation of CDH1, DAPK, RARB, and HIC1 genes in carcinoma of cervix uteri: its relationship to clinical outcome. *Mol Cancer* 2003;2:24.
 19. Chaopatchayakul P, Jearanaikoon P, Yuenyao P, Limpaboon T. Aberrant DNA methylation of apoptotic signaling genes in patients responsive and non-responsive to therapy for cervical carcinoma. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(3):281.e1-9.
 20. Dodge JE, Okano M, Dick F, Tsujimoto N, Chen T, Wang S, et al. Inactivation of Dnmt3b in mouse embryonic fibroblasts results in DNA hypomethylation, chromosomal instability, and spontaneous immortalization. *J Biol Chem.* 2005;280:17986-91.
 21. Missaoui N, Hmissa S, Dante R, Frappart L. Global DNA methylation in precancerous and cancerous lesions of the uterine cervix. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2010;11(6):1741-4.
 22. Strahl B, Allis C. The language of covalent histone modifications. *Nature.* 2000;403(6765): 41-5.
 23. Anton M, Horký M, Kuchtícková S, Vojtěšek B, Bláha O. Immunohistochemical detection of acetylation and phosphorylation of histone H3 in cervical smears. *Ceska Gynecol.* 2004;69:3-6.
 24. Zhang Z, Joh K, Yatsuki H, Zhao W, Soejima H, Higashimoto K, et al. Retinoic acid receptor beta2 is epigenetically silenced either by DNA methylation or repressive histone modifications at the promoter in cervical cancer cells. *Cancer Lett.* 2007;247(2):318-27.
 25. Bañuelos CA, Banáth JP, Kim JY, Aquino-Parsons C, Olive PL. gammaH2AX expression in tumors exposed to cisplatin and fractionated irradiation. *Clin Cancer Res.* 2009;15(10):3344-53.
 26. Kim T, Reitmair A. Non-Coding RNAs: Functional Aspects and Diagnostic Utility in Oncology. *Int J Mol Sci.* 2013;3:4934-68.
 27. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer.* 2006; (11):857-66.
 28. Pereira PM, Marques JP, Soares AR, Carreto L, Santos MA, Zheng Z. MicroRNA expression variability in human cervical tissues. *PLoS One.* 2010;5(7):e11780.
 29. Shen Y, Wang P, Li Y, Ye F, Wang F, Wan X, et al. miR-375 is upregulated in acquired paclitaxel resistance in cervical cancer. *Br J Cancer.* 2013;109(1):92-9.
 30. Shen SN, Wang LF, Jia YF, Hao YQ, Zhang L, Wang H. Upregulation of microRNA-224 is associated with aggressive progression and poor prognosis in human cervical cancer. *Diagn Pathol.* 2013;8:69.
 31. Zheng ZM, Wang X. Regulation of cellular miRNA expression by human papillomaviruses. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1809(11-12):668-77.
 32. Spizzo R, Almeida MI, Colombatti A, Calin GA. Long non-coding RNAs and cancer: a new frontier of translational research? *Oncogene.* 2012;(43):4577-87.
 33. Douc-Rasy S, Barrois M, Fogel S, Ahomadegbe JC, Stéhelin D, Coll J, et al. High incidence of loss of heterozygosity and abnormal imprinting of H19 and IGF2 genes in invasive cervical carcinomas. Uncoupling of H19 and IGF2 expression and biallelic hypomethylation of H19. *Oncogene.* 1996;12(2):423-30.
 34. Guo F, Li Y, Liu Y, Wang J, Li Y, Li G. Inhibition of metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in CaSki human cervical cancer cells suppresses cell proliferation and invasion. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2010;42(3):224-9.
 35. Landerer E, Villegas J, Burzio VA, Oliveira L, Villota C, Lopez C, et al. Nuclear localization of the mitochondrial ncRNAs in normal and cancer cells. *Cell Oncol.* 2011;(4):297-305.
 36. Gibb EA, Becker-Santos DD, Enfield KS, Guillaud M, Niekerk Dv, Maticic JP, et al. Aberrant expression of long noncoding RNAs in cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer.* 2012; (9):1557-63.
 37. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med.* 2003;349:2042-54.
 38. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005;352(10):997-1003.
 39. Jones PA, Taylor SM, Wilson VL. Inhibition of DNA methylation by 5-azacytidine. *Recent Results Cancer Res.* 1983; 84:202-11.
 40. Mann BS, Johnson JR, Cohen MH, Justice R, Pazdur R. FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Oncologist.* 2007;12(10):1247-52.
 41. Gore SD, Baylin S, Sugar E, Carraway H, Miller CB, Carducci M, et al. Combined DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibition in the treatment of myeloid neoplasms. *Cancer Res.* 2006; 66(12):6361-9.
 42. Coronel J, Cetina L, Pacheco I, Trejo-Becerril C, González-Fierro A, de la Cruz-Hernandez E, et al. A double-blind, placebo-controlled, randomized phase III trial of chemotherapy plus epigenetic therapy with hydralazine valproate for advanced cervical cancer. Preliminary results. *Med Oncol.* 2011; 28 Suppl 1:S540-546.
 43. Bogdahn U, Hau P, Stockhammer G, Venkataramana NK, Mahapatra AK, Suri, et al. A targeted therapy for high-grade glioma with the TGF-β2 inhibitor trabedersen: results of a randomized and controlled phase IIb study. *Neuro Oncol.* 2011;13(1):132-42.
 44. Rom J, von Minckwitz G, Eiermann W, Sievert M, Schlehe B, Marmé F, et al. Oblimersen combined with docetaxel, adriamycin and cyclophosphamide as neo-adjuvant systemic treatment in primary breast cancer: final results of a multicentric phase I study. *Ann Oncol.* 2008;19(10):1698-705.
 45. Alvarez-Salas LM, Benítez-Hess ML, DiPaolo JA. Advances in the development of ribozymes and antisense oligodeoxynucleotides as antiviral agents for human papillomaviruses. *Antivir Ther.* 2003;8(4):265-78.