

Cambios epigenéticos y Cáncer. Nueva visión de la Transformación Tumoral

Calderón A.J.¹

1. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas Venezuela.

Resumen

Contacto

Alí J Calderón A.
alicalderon16@gmail.com.

Dirección: Carretera
Panamericana Km 11. IVIC.
Caracas Venezuela.
Teléfono: +0058- 165676061

Los patrones epigenéticos aberrantes a nivel de la cromatina conllevan a una regulación transcripcional disfuncional, y hay evidencia creciente que esto representa uno de los agentes causales del desarrollo de procesos cancerígenos. Entre los cambios epigenéticos más importantes en cáncer destacan el estatus de metilación en el ADN y de acetilación en histonas. La metilación del ADN ocurre en residuos de citosina en el dinucleótido CpG, ubicadas en mayor medida en regiones promotoras de genes. Patrones aberrantes de hipermetilación en estas zonas causan la represión transcripcional de los genes afectados. Por otra parte, la acetilación de histonas está relacionada a una elevada actividad transcripcional. Enzimas desacetilasas de histonas (HDACs), sobre-expresadas en células cancerígenas, escinden estos grupos acetilo de las histonas, ocasionando un mayor empaquetamiento de la cromatina. Un gran número de genes implicados en la regulación del ciclo celular, reparación del ADN y muerte celular son silenciados por estas modificaciones en cáncer, resaltando los que poseen actividad supresora tumoral, lo cual provoca su inactivación, contribuyendo con la aparición de procesos cancerígenos. Debido a esto, el uso de marcadores epigenéticos típicos de tumores específicos como blancos terapéuticos está siendo evaluado, así como los posibles usos de agentes farmacológicos que reviertan estos cambios en humanos, lo cual pudiera contribuir con la re-expresión transcripcional de los genes afectados, abriendo un nuevo campo en la terapia anti-tumoral.

Palabras claves: cáncer, expresión genética, ADN, terapia anti-tumoral.

Epigenetic changes and Cancer. New Vision of tumor transformation

Calderón A.J.¹

1. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas Venezuela.

Abstract

Contacto

Alí J Calderón A.
alicalderon16@gmail.com.

Dirección: Carretera
Panamericana Km 11. IVIC.
Caracas Venezuela.
Teléfono: +0058- 165676061

Aberrant epigenetic patterns at chromatin level lead to a dysfunctional transcriptional regulation and there is growing evidence that this may represent one of the causative agents of the carcinogenic process development. Among the most important epigenetic changes showed in cancer include the DNA methylation status and the patterns of histone acetylation. DNA methylation occurs at cytosine residues within CpG dinucleotide, located in promoter regions of genes. Aberrant patterns of hypermethylation in these areas causes transcriptional repression of genes affected. On the other hand, the histone acetylation is related to a high transcriptional activity. Histone deacetylase enzymes are overexpressed in cancer cells, and they cleave these acetyl groups from histone, causing looser chromatin packaging. A large number of genes involved in regulating the cell cycle, DNA repair and cell death are silenced by these changes in cancer, highlighting those possessing tumor suppressor activity, causing its inactivation and contributing to the occurrence of carcinogenic processes. Due to this, the use of epigenetic markers typical of tumors as therapeutic targets are being researched, as well as the possible use of pharmacological agents that reverse these changes in humans which could contribute to the transcriptional re-expression of affected genes, opening a new field in antitumor therapy.

Keywords: genetic expression, cancer, DNA, antitumor therapy.

Introducción

La epigenética es el campo de la ciencia que estudia los cambios heredables a nivel del ADN que no están basados en alteraciones en su secuencia, sino en modificaciones de la cromatina que alteran la expresión de ciertos genes [1]. Evidencias crecientes muestran que estos cambios son influenciados por factores ambientales, y juegan un rol importante en las bases fetales que determinan la susceptibilidad a enfermedades en etapas adultas [2]. Estos tipos de alteraciones epigenéticas se pueden dividir en 2 grandes grupos: las modificaciones a nivel del ADN y las modificaciones post-traduccionales en sus proteínas asociadas conocidas como histonas, los cuales pueden ser transferidos de una célula parental a sus células hijas [3-4]. El conjunto de estas variaciones controlan la arquitectura de la cromatina y determinan la expresión genética, procesos que son influenciados principalmente por el estado de metilación de nucleótidos citosinas en el ADN, y de diversas modificaciones post-traduccionales en histonas. Este control epigenético a nivel transcripcional es de vital importancia para la regulación de diversos procesos celulares, tales como diferenciación, compensación de carga genética (inactivación de cromosomas X), "imprinting" genómico y adaptación celular frente a condiciones medioambientales diversas [2,5-6].

Trastornos en la regulación de la expresión de diferentes genes han sido involucrados en el desarrollo de numerosas enfermedades. Entre éstas se encuentran el desarrollo de diferentes tipos de cáncer, en donde el patrón de modificaciones epigenéticas está considerablemente alterado en relación a una célula normal [5, 7], modificando la expresión de ciertos genes, lo cual representa uno de los factores responsables que provocan la transformación de una célula a una con características tumorales [8-9]. Así, el estudio de los efectos de estos cambios en el epigenoma que alteran el patrón transcripcional de una célula son de vital importancia en el entendimiento del origen y progreso tumoral. Así, surgen varias preguntas que deben ser contestadas sobre la epigenética del cáncer: ¿Qué cambios epigenéticos específicos determinan la transformación de una célula sana en tumoral? ¿Estos cambios ocurren antes o después de las mutaciones a

nivel de secuencia vistas en procesos cancerígenos? ¿Cuántos genes son afectados por estas alteraciones? ¿Pueden estos cambios epigenéticos ser útiles como herramienta diagnóstica y terapéutica?

A continuación, se presentan algunos detalles de las modificaciones más ampliamente estudiadas a nivel de la cromatina relacionados con la aparición y desarrollo de procesos cancerígenos. Además, se describen algunos avances terapéuticos centrados en el empleo de fármacos que revierten estos cambios epigenéticos y sus posibles usos con fines anti-tumorales.

Modificaciones en el ADN

Del conjunto de modificaciones epigenéticas, la metilación a nivel del ADN es el componente principal en la regulación de la expresión genética, lo cual conlleva principalmente a su silenciamiento transcripcional [4,10-11]. Estas metilaciones no ocurren al azar en el genoma, sino que afectan a residuos de citosina en regiones ricas en el dinucleótido CG (citosina-guanina), conocidas como islas CpG, ubicadas principalmente en el extremo 5' del gen, que comprende regiones promotoras o cercanas a estas [8-9,12]. Esta reacción es catalizada por la acción de ADN-metil-transferasas (DNMT), las cuales catalizan la adición de un grupo metilo proveniente de la S-adenosil-metionina [13]. Esta modificación provoca inhibición transcripcional de los genes afectados, ya que estas zonas hipermetiladas resultantes interfieren la unión de factores de transcripción a sus secuencias blanco en regiones promotoras, o reclutan complejos represores que se unen específicamente a sitios metilados e inhiben la acción de la maquinaria transcripcional. Este mecanismo es uno de los factores responsables para la iniciación de un proceso tumoral, ya que principalmente afecta a genes con actividad supresora de tumores, desregulando el potencial replicativo de la célula, así como las rutas de muerte y promoviendo la sobrevivencia celular, lo cual contribuye con el desarrollo tumoral [14]. Por tanto, cabe pensar que estas modificaciones le pueden proporcionar a la célula tumoral ventajas de crecimiento y proliferación, a través de la alteración de las vías de regulación de sobrevivencia y de proliferación celular.

En principio, las células cancerígenas sobrellevan una pérdida generalizada de su estatus de metilación (hipometilación global), en secuencias de ADN repetitivas, intrónicas y exónicas en el gen afectado, reduciéndose su contenido de 5-metilcitosina en un 20-60%, con respecto a su contraparte sana. Está hipometilación está vinculada con cambios genéticos característicos de la tumorigénesis, tales como inestabilidad genómica, activación de secuencias endoparásitas, expresión genética inapropiada del tipo celular, des-diferenciación y proliferación celular [15-16]. Los mecanismos que desencadenan estos procesos no han sido del todo esclarecidos. Posteriormente, las células tumorales adquieren patrones de hipermetilación de islas CpG ubicadas en regiones promotoras específicas de ciertos genes (hipermetilación focal), particularmente en aquellos con actividad supresora de tumores, lo cual conlleva a su represión transcripcional. Esta disminución transcripcional de estos genes, promueve una proliferación celular fuera de control y estimula la resistencia a apoptosis en células que han sufrido alguna mutación aberrante en su genoma, favoreciendo su transformación hacia un fenotipo tumoral. En este sentido, se ha encontrado una hipermetilación de los genes supresores tumorales MLH1 (homólogo de Mut-L), MGMT (O6-metilguanina-metil-transferasa) y p16 en células de cáncer colorectal, lo cual induce su represión transcripcional y favorece la progresión tumoral [17]. Igualmente, la hipermetilación de 2 genes supresores tumorales, tales como HIC1 y RASSF1A, indujo la transformación de células madres mesenquimales derivadas de médula ósea a mostrar características de células cancerígenas, como capacidad de formación de colonias aumentada, resistencia a drogas y pluripotencialidad [18]. Estos resultados confirman una relación entre la hipermetilación de genes con actividad antitumoral y la aparición de cáncer, lo cual puede inactivar mecanismos de regulación del ciclo celular y de rutas de muerte, favoreciendo la evolución y expansión clonal del tumor.

Existen evidencias de que este estado de hipermetilación del ADN es clave para el mantenimiento de aquellas modificaciones post-traduccionales ubicadas a nivel de histonas [17]. Esto pareciera ser debido a la acción de un conjunto de

proteínas que reconocen residuos de 5-metilcitosina conocidas como MBP (Methyl-binding protein) [19], las cuales funcionan como adaptadoras entre el ADN metilado y las enzimas modificadoras de la cromatina, tales como las propias DNMT, histona metil-transferasa (HMT) y histona desacetilasa (HDAC). De este modo, el estatus de metilación pareciera ser el primer paso para poder dar lugar a otros conjuntos de modificaciones epigenéticas que regulan, en último término, la actividad transcripcional. Esto sugiere que la metilación a nivel del ADN es el primer paso que da lugar a otros cambios epigenéticos en la cromatina, reclutando enzimas modificadoras de esta, cuya acción afecta la expresión genética.

Estos patrones de hipermetilación en cáncer resultan más común que incluso las mutaciones genéticas convencionales observadas en esta enfermedad, tales como cambio de nucleótido, deleción y recombinación, y es un marcador común en etapas iniciales de esta enfermedad. Sin embargo, hasta los momentos poco se conoce acerca de los procesos por medio de los cuales la metilación aberrante del ADN se propaga hacia las secuencias no-metiladas, y como estas modificaciones son mantenidas a través de la división celular [14]. Por otra parte, no sólo el grado de metilación del ADN en la isla CpG es determinante en el proceso de regulación epigenética, sino que también lo es su ubicación dentro del gen involucrado, pudiendo ocasionar distintos efectos según su localización. De esta manera, una metilación aberrante en solo una pequeña región "core" (núcleo) en la isla CpG que coincide con el sitio de inicio de la transcripción es suficiente para reprimir la expresión del gen [20]. Esto demuestra que existen zonas con mayor sensibilidad al silenciamiento transcripcional por hipermetilación en la estructura del gen.

Por estas razones, la identificación de cambios en el estatus de metilación asociados con procesos cancerígenos, y de los mecanismos regulatorios que estos ejercen sobre la expresión transcripcional, podría ser crucial para dilucidar los efectos y consecuencias de esta alteración sobre el desarrollo tumoral, y pudieran ser utilizados como factores pronósticos para la detección temprana de esta enfermedad, así como en el diseño de estrategias terapéuticas.

Modificaciones epigenéticas a nivel de Histonas

Existen 5 tipos de proteínas histonas (H1, H2A, H2B, H3, H4) ubicadas en el núcleo de células eucariotas, que permiten el adecuado empaquetamiento de la cromatina, y forman parte del nucleósoma, la unidad estructural de organización de la cromatina [21]. Estas histonas presentan numerosas modificaciones post-traduccionales, las cuales influyen en su interacción con el ADN y determinan las zonas transcripcionalmente activas dentro del genoma. Entre estas modificaciones destacan por su importancia en procesos tumorales la metilación y acetilación de residuos de lisina, principalmente en histonas tipo H3 y H4. Las diferentes combinaciones de estas modificaciones sobre los aminoácidos de estas proteínas determinan la manera en que el nucleósoma se une y compacta al ADN, regulando la expresión genética. Esto ha sido denominado como “código epigenético” [9,17]. La cromatina, tiene dos estados posibles, uno abierto (eucromatina) mucho más laxo donde se ubican los genes activos transcripcionalmente, y otro cerrado (heterocromatina), más compacto y reprimido para su transcripción. Son el conjunto de las combinaciones de estos cambios epigenéticos en diferentes posiciones de aminoácidos los que originan cada uno de ellos [17].

En este sentido, la metilación de histonas parece ser fundamental en el mantenimiento del silenciamiento de genes cuyos promotores han sido metilados en residuos de citosina [22]. Por otra parte, la regulación transcripcional ejercida por la metilación de histonas, radica no solo en el residuo específico que ésta afecte, sino en la cantidad de grupos metilos adicionados. Así, la mono-metilación o des-metilación específicamente de Lisina 9 de histonas H3 se relaciona con un estado transcripcional activo, mientras que su di-metilación o tri-metilación condiciona un estado suprimido. Así mismo, la tri-metilación en la Lisina 27 de la histona H3 provoca un silenciamiento de genes supresores tumorales en cáncer colorectal, mientras que su des-metilación en Lisina 4 ocasiona el mismo efecto [9,17]. En este sentido, este patrón de tri-metilación ha sido encontrado como un marcador de genes antitumorales reprimidos en cáncer de próstata, pero se ha visto que, contrario a lo explicado anteriormente, este silenciamiento es independiente

del estatus de metilación del ADN [23]. Esto establece un nuevo paradigma en la regulación epigenética, en la que un solo cambio en un aminoácido parece ser crucial para la represión de genes, incluso si el ADN no presenta un patrón de metilación aberrante.

Por otra parte, otro de los cambios a nivel de histonas más ampliamente estudiado y mejor entendidos es la adición reversible de grupos acetilo en residuos de lisina. Las enzimas HAT (histonas acetil transferasas) añaden estos grupos acetilos a residuos de lisinas utilizando acetil-CoA como cofactor [24-25]. Histonas acetiladas están asociadas a genes transcripcionalmente activos, pues es pensado que este radical aumenta la accesibilidad de complejos proteicos tales como factores de transcripción a regiones genómicas particulares. Esto es debido a que la adición de estos grupos acetilo a residuos de lisina provoca la neutralización de la carga positiva del nitrógeno ubicado en su cadena lateral, lo que resulta en una interacción reducida entre las colas de histonas cargadas positivamente y las carga negativa del ADN. Esto produce que la cromatina adopte una conformación “abierta”, la cual permite el acceso al promotor por parte de la ARN polimerasa II y los factores transcripcionales asociados [25]. Las enzimas desacetilasas de histonas (HDACs) clivan este radical acetilo, provocando la condensación de la cromatina, lo cual inactiva la expresión genética. Este mecanismo es visto en procesos tumorales, los cuales conllevan la inactivación transcripcional de proteínas con funciones anti-neoplásicas.

En concordancia con esta afirmación, la pérdida de acetilación en la lisina 16 de histonas H4 ha sido encontrada como un patrón común para líneas celulares de leucemia, apareciendo en etapas iniciales del desarrollo tumoral [26]. Por otra parte, la acumulación de histonas H3 y H4 acetiladas después del tratamiento con un inhibidor de las HDAC ha sido asociado con la inducción de la expresión del gen supresor de tumores p21WAF en células de cáncer de vejiga humano, indicando que la expresión transcripcional de este gen supresor de tumores está regulado por el grado de acetilación de sus histonas asociadas [27]. Adicionalmente, la fosforilación de HDAC a través de proteínas involucradas en rutas de proliferación celular tipo MAPK, (del inglés Mitogen

Activated Protein Kinase), ha sido asociada a la activación de esta enzima [28]. Como estas rutas están desregulada en números tipos de cáncer, induciendo sobrevivencia y proliferación tumoral, la activación de HDAC en respuesta a señales de proliferación mediadas por proteínas MAPK pudiera ser una estrategia de adaptación de las células cancerígenas, para desacetilar e inactivar la expresión de genes con actividad antitumoral, confiriéndole una ventaja selectiva de crecimiento a estas células, lo que promovería la sobrevivencia y la hiper-proliferación del tumor.

Posible rol terapéutico de los cambios epigenéticos

Múltiples trabajos han mostrado que agentes farmacológicos pueden revertir cambios epigenéticos, principalmente inhibiendo el proceso de metilación y desacetilación de la cromatina [24, 29-30]. En este sentido, la idea de revertir los patrones aberrantes de cambios epigenéticos causantes de cáncer como estrategia terapéutica para inducir la expresión de los genes silenciados pareciera tener importancia clínica. Por esta razón, en los últimos años se han hecho una gran cantidad de esfuerzos orientados hacia la búsqueda de compuestos que induzcan la re-expresión de genes silenciados por estas alteraciones inductoras de tumores, a partir de la reversión de estos cambios en el epigenoma por medio de agentes farmacológicos [31-34]. Algunos de los compuestos más ampliamente estudiados y utilizados para revertir estos cambios epigenéticos en cáncer son aquellos que afectan la maquinaria enzimática responsable de la adición de grupos metilo y acetilo a nivel de la cromatina.

Entre éstos se encuentran los inhibidores de las metil-transferasas de ADN, de gran utilidad como agentes antitumorales a nivel clínico. En este grupo se destaca la 5-azacitidina, un ribonucleósido aprobado para su uso en humanos por la FDA (Food and Drug Administration). Éste nucleósido se incorpora al ADN y funciona como un inhibidor de las DNMT, formando un complejo con éstas mediante un enlace sulfhídrico con la cisteína del centro catalítico de la enzima, inactivándola y permitiendo que las DNMT sean eliminadas de la célula. De este modo, la metilación del ADN no puede propagarse [35]. La 5-azacitidina,

así como sus derivados, han sido evaluados en una gran cantidad de trabajos experimentales contra células cancerígenas. Así, un estudio en líneas celulares de cáncer gástrico evaluó el estatus de metilación del gen p16 y MLH1, involucrados en la reparación del ADN y en la regulación a la entrada al ciclo celular, respectivamente, encontrándose que ambos genes estaban silenciados por hipermetilación. En este mismo trabajo se demostró por PCR en tiempo real que el tratamiento con este fármaco induce la re-expresión de estos genes inactivados por hipermetilación, lo cual se correlacionó además con una disminución del grado de metilación a nivel de histonas [29]. En otro estudio con células de cáncer de colon, se obtuvieron resultados similares para genes con actividad antitumoral, mientras que no se observaron diferencias a nivel transcripcional en la expresión de proto-oncogenes [36]. Tomando todos estos resultados juntos, se puede vislumbrar la utilidad de este compuesto como fármaco antitumoral, gracias a sus efectos sobre las modificaciones epigenéticas aberrantes que contribuyen con la aparición y progresión de un tumor.

Así mismo, y debido a los efectos tóxicos de inhibidores que se incorporen al ADN, como el 5-Azacitidina, debido a que altera la secuencia del genoma, ya que debe incorporarse a este, han sido desarrollados y evaluados moléculas del tipo no-nucleosídicas, que también inactiven a las DNMT pero evitando los graves efectos secundarios observados por el uso de análogos de nucleósido. En este sentido, una nueva molécula llamada RG108, sintetizada de novo para bloquear efectivamente el sitio activo de las enzimas DNMT, sin incorporación al ADN, indujo la des-metilación y reactivación de genes supresores de tumores en células hipermetiladas de cáncer de colon, mostrando una menor citotoxicidad que otros tipos de inhibidores mas ampliamente usados y con una vida media más larga [37]. Otro trabajo reportó que la droga procaínamida, un inhibidor de las metil-transferasas de ADN, revirtió el silenciamiento del gen supresor tumoral GSTP1, codificante de la glutatión-s-transferasa clase π en células de cáncer de próstata [38]. La hipermetilación de este gen representa el cambio en el genoma más común en este tipo de cáncer, lo cual resulta en una inadecuada defensa de las células prostáticas

contra carcinógenos electrofílicos y oxidantes. Así, la procaínamida revirtió la hipermetilación de las islas CpG de GSTP1 y restauró su expresión en células en cultivo y en tumores inducidos en ratones desnudos [38]. Así mismo, revirtió la hipermetilación de las islas CpG en células de cáncer de mama, induciendo la re-expresión de genes supresores de tumores silenciados epigenéticamente. Este compuesto mostró actividad de supresión del ciclo celular, estando dicho efecto asociado con su fuerte unión a las regiones del ADN ricas en estas islas [39]. Tomando en consideración estos resultados, se destaca la importancia que posee el entendimiento de estos patrones epigenéticos aberrantes en el diseño de posibles estrategias terapéuticas adicionales a las terapias tradicionales [40].

Además del empleo de fármacos que reviertan las hipermetilaciones aberrantes del ADN vistas en procesos tumorales, el estatus de acetilación en residuos de lisina en las histonas 3 y 4 que ocasionan cambios pro-tumorales también ha sido objeto de estudio como posibles blancos terapéuticos [41]. Como ya se dijo, células tumorales presentan histonas 3 y 4 asociadas a genes supresores de tumores carentes de grupos acetilos en ciertos residuos de lisinas, comparada con células normales, lo que induce una mayor compactación y empaquetamiento de la cromatina en estas zonas, causando la inhibición de la expresión de estos genes, y por consiguiente, contribuyendo con la eliminación de los mecanismos de regulación del ciclo de división celular, de rutas de muerte y sobrevivencia, y de mecanismos supresores de tumores, favoreciendo al proceso neoplásico. Por esta razón, se ha considerado a las desacetilasas de histonas como blancos prometedores para el desarrollo de drogas alternativas en terapia anti-tumoral [26,42].

Inhibidores de estas enzimas que causan cambios del estatus de acetilación en proteínas histonas han sido evaluados sobre diversas células cancerígenas, demostrando su efectividad en la reversión de estas modificaciones y en la re-expresión transcripcional de los genes silenciados. En este sentido, el silenciamiento de SIRT1, una proteína desacetilasa de histonas de la familia de las sirtuinas, mediante el uso de ARN de interferencia (ARNi), o su inhibición

con inhibidores generales y específicos de sirtuinas, indujo un aumento de la expresión de genes supresores de tumores en células de cáncer de mama y colon, reactivando su expresión. Así, los genes de la E-cadherina y MLH1, los cuales median la adhesión célula-célula y la reparación del ADN, inactivados en muchos tipos de cáncer, fueron re-expresados tras el tratamiento de estas células cancerígenas con los agentes inhibidores de SIRT1 [43].

Otras drogas estudiadas para inhibir las HDAC han sido las derivas del ácido hidroxámico, los cuales han sido los agentes más estudiados para este fin sobre células cancerígenas [44], correlacionándose sus efectos con un aumento del estado de hiperacetilación de histonas. Así, los cambios en los niveles de acetilación sobre histonas asociadas al gen p21WAF1, un inhibidor quinasa del ciclo celular, fueron explorados en células cancerígenas humanas tras su tratamiento con SAHA, un derivado de ácido hidroxámico. Esto demostró que a 7,5µM, este agente induce la acumulación de histonas H3 y H4 acetiladas. Dicho incremento en el grado de acetilación estuvo correlacionado con un aumento de la expresión de este gen y con una inhibición de la proliferación, sin afectar la viabilidad celular. Además, se observó cierta selectividad sobre genes relacionados a procesos cancerígenos, no afectando la expresión de otros genes ajenos al desarrollo tumoral. Esto sugiere que este inhibidor induce cambios en la acetilación de histonas en áreas específicas de la cromatina que pudieran estar involucradas en el desarrollo tumoral [27]. Resultados similares fueron obtenidos utilizando otros tipos de inhibidores de HDACs, tales como TSA (Tricostatina A) y butirato de sodio, en células de cáncer de colon [45].

Del mismo modo, en un análisis del perfil de expresión genético de células cancerígenas de mama e hígado tratadas con tres tipos de inhibidores de desacetilasas de histonas (TSA, SAHA y MS-275) se observó que éstos inducían la hiperacetilación de histonas H4 después de 4 horas de tratamiento, además de regular un conjunto de genes en común, los cuales presentan actividades antitumorales, tales como detención del ciclo celular. En consonancia, estos cambios de expresión estaban acompañados de actividad antiproliferativa [46]. Entre los ejemplos de

aplicaciones clínicas de estos compuestos tenemos al Vorinostat (N-hidroxi-N'-fenil-octanodiamida), el cual fue el primer inhibidor de las HDACs aprobado por la FDA para el tratamiento del linfoma de células de T cutánea, en personas que son reincidentes a esta enfermedad ó no respondieron al tratamiento con otros fármacos. Panobinostat, otro fármaco de origen reciente, es el inhibidor más potente entre los ácidos hidroxámicos utilizados a nivel clínico [25].

Por lo antes expuesto, existen pruebas contundentes de trabajos recientes acerca de la acción de inhibidores de la metilación y de las HDACs sobre la re-expresión de genes con actividad antitumoral silenciados en procesos tumorales. Por esta importante razón, se han desarrollado esfuerzos enfocados al descubrimiento de nuevos fármacos que tengan como blancos moleculares estas enzimas modificadoras de la cromatina, y tratar de utilizarlos como terapia alternativa a nivel clínico en pacientes con cáncer, intentando disminuir los efectos colaterales de la terapia convencional como quimioterapia y radioterapia. Estudios iniciales enfocados a esta área han mostrado que inhibidores de HDACs son bien tolerados y exhiben actividad anticancerígena contra una amplia variedad de tumores⁴⁷. Por toda esta evidencia, el descubrimiento de las bases moleculares de la selectividad anticancerígena de estos compuestos y el desarrollo de nuevos fármacos que sean capaces de revertir los cambios epigenéticos que conllevan al desarrollo del cáncer, sin la aparición de graves efectos secundarios, debe ser un área de mucho interés en la investigación biomédica, en aras de tratar de diseñar efectivas estrategias terapéuticas contra esta enfermedad. En este sentido, el desarrollo de drogas con efectos duales sobre los patrones aberrantes de hipermetilación del ADN y desacetilación de histonas debería ser un objeto prioritario para el campo farmacéutico, con el fin de tratar con mayor efectividad las alteraciones epigenéticas que conllevan a un fenotipo tumoral.

Conclusiones

Los cambios epigenéticos se presentan como uno de los factores claves responsables en la regulación de la arquitectura de la cromatina y en el control de la expresión genética. El control resultante por estas

modificaciones se debe a varios factores, entre los que se destacan el estatus de metilación del ADN, la acetilación de residuos aminoácidos específicos constituyente de sus proteínas asociadas conocidas como histonas, y a la ubicación exacta de estas alteraciones en el genoma. Estas modificaciones se presentan como factores determinantes en los procesos de silenciamiento transcripcional. De este modo, la combinación de alteraciones epigenéticas que ocasionen la inactivación de genes supresores de tumores puede dar origen al inicio del desarrollo de un tumor. En este sentido, estas alteraciones del epigenoma inductoras de cáncer pudiera ser una estrategia de las células cancerígenas para obtener una ventaja de crecimiento selectiva, inactivando los mecanismos reguladores de crecimiento, proliferación y sobrevivencia de la célula, contribuyendo con el desarrollo y propagación del tumor. Así, el desarrollo de nuevas drogas orientadas a revertir estos cambios en la cromatina y a eliminar sus efectos inactivadores sobre el genoma, debe ser un área de investigación de gran interés en el futuro, lo cual podría contribuir en el diseño de estrategias terapéuticas cuyo objetivo este orientado al tratamiento de pacientes que padecen cáncer.

Bibliografía

1. Kristensen LS, Nielsen HM, Hansen LL. Epigenetics and cancer treatment. *Eur J of Pharmacol.* 2009; 625(1-3): 131-142.
2. Dolinoy DC, Weidman JR, Jirtle RL. Epigenetic gene regulation: Linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol.* 2007; 23(3): 297-307.
3. Shones De, Zhao K. Genome-wide approaches to studying chromatin modifications. *Nat Rev Genet.* 2008; 9(3): 179-191.
4. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature.* 2007; 447(7143): 396-398.
5. Jones PA, Baylin SB. The Epigenomics of Cancer. *Cell.* 2007; 128(4): 683-692.
6. Martinet N, Bertrand P. Interpreting clinical assays for histone deacetylase inhibitors. *Cancer Manag Res.* 2011; 3: 117-141.
7. Rajnakova A, Mochhala S, Goh PM, Ngoi S. Expression of nitric oxide synthase, cyclooxygenase, and p53 in different stages of human gastric cancer. *Cancer Lett;* 172(2): 177-185.

8. Khulan B, Thompson RF, Ye K, Fazzari MJ, Suzuki M, Stasiak E, et al. Comparative isoschizomer profiling of cytosine methylation: The HELP assay. *Genome Res.* 2006; 16(8): 1046-1055.
9. Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet.* 2007; 8(4): 286- 298.
10. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet.* 2002; 3(6): 415- 428.
11. Feinberg AP, Ticko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer.* 2004; 4(2): 143-153.
12. Bird AP. CpG rich islands and the function of DNA methylation. *Nature.* 1986; 321(6067): 209-213.
13. Zangi R, Arrieta A, Cossío FP. Mechanism of DNA Methylation: The Double Role of DNA as a Substrate and as a Cofactor. *J Mol Biol.* 2010; 400(3): 632–644.
14. Esteller M. Aberrant DNA methylthion as a cancer-inducing mechanism. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2005; 45: 629-656.
15. Esteller M. Epigenetics in Cancer. *N Engl J Med.* 2008; 358(11): 1148-1159.
16. Chen RZ, Pettersson U, Beard C, Jackson-Grusby L, Jaenisch R. DNA hypomethylation leads to elevated mutation rates. *Nature.* 1998; 395(6697): 89–93.
17. Kondo Y, Shen L, Issa JP. Critical Role of Histone Methylation in Tumor Suppressor Gene Silencing in Colorectal Cancer. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(1): 206-215.
18. Teng IW, Hou PC, Lee KD, Chu PY, Yeh KT, Tseng MJ, et al. Targeted Methylation of Two Tumor Suppressor Genes Is Sufficient to Transform Mesenchymal Stem Cells into Cancer Stem/Initiating Cells. *Cancer Res.* 2011; 71(13): 4653- 4663.
19. Lopez-Serra L, Ballestar E, Fraga MF, Alaminos M, Setien F, Esteller M. A Profile of Methyl-CpG Binding Domain Protein Occupancy of Hypermethylated Promoter CpG Islands of Tumor Suppressor Genes in Human Cancer. *Cancer Res.* 2006; 66(17): 8342-8346.
20. Ushijima T. Detection and interpretation of altered methylation patterns in cancer cells. *Nat Rev Cancer.* 2005; 5(3): 223-231.
21. Mathews C, Van Holde K. *Biochemical.* Ed. McGraw-Hill Interamericana 2da edición. Madrid, 2000.
22. Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, Bachman KE, Schuebel K, Herman JG. Aberrant patterns of DNA methylthion, chromatin formation and gene expression in cancer. *Hum Mol Genet.* 2001; 10(7): 687-692.
23. Kondo Y, Shen L, Cheng AS, Ahmed S, Bumber Y, Charo C, et al. Gene silencing in cancer by histone H3 lysine 27 trimethylation independent of promoter DNA methylation. *Nat Genet.* 2008; 40(6): 741-750.
24. Dje N'Guessan P, Riediger F, Vardarova K, Scharf S, Eitel J, Opitz B, et al. Statin control oxidated LDL-mediated histone modifications and gene expression in cultured human endothelial cell. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(3): 380-386.
25. Wagner JM, Hackanson B, Lubbert M, Jung M. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors in recent clinical trials for cancer therapy. *Clin Epigenet.* 2010; 1(3-4): 117- 136.
26. Fraga MF, Ballestar B, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet.* 2005; 37(4): 391-400.
27. Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2000; 97(18): 10014- 10019.
28. Hauser C, Schuettengruber B, Bartl S, Lagger G, Seiser C. Activation of the Mouse Histone Deacetylase 1 Gene by Cooperative Histone Phosphorylation and Acetylation. *Mol Cell Biol.* 2002; 22(22): 7820-7830.
29. Meng CF, Zhu XJ, Peng G, Dai DQ. Re-expression of methylation –induced tumor suppressor gene silencing is associated with the state of histone modification in gastric cancer cell lines. *World J Gastroenterol.* 2007; 13(46): 6166- 6171.
30. Laird P. The Power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(4): 253- 266.
31. Facchinetti F, Furegato S, Terrazzino S, Leon A. H2O2 Induces Upregulation of Fas and Fas Ligand Expression in NGF-Differentiated PC12 Cells: Modulation By cAMP. *J Neurosci Res.* 2002; 69():178–188.
32. Bogenmann E, Peterson S, Maekawa K, Matsushima H. Regulation of NGF responsiveness in human neuroblastoma. *Oncogene.* 1998, 17(18): 2367-2376.
33. Das A, Banik NL, Ray SK. Flavonoids Activated Caspases for Apoptosis in Human Glioblastoma T98G and U87MG Cells But Not in Human Normal Astrocytes. *Cáncer.* 2010, 116(1): 164-176.
34. Shim YH, Kang GH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinomas. *Lab Invest.* 2000; 80(5): 689-695.
35. Lyko F, Brown R. DNA Methyltransferase Inhibitors and the Development of Epigenetic Cancer Therapies. *J*

- Natl Cancer Inst. 2005; 97(20): 1498-1506.
36. Fang JY, Chen YX, Lu J, Lu R, Yang L, Zhu HY, et al. Epigenetic modification regulates both expression of tumor-associated genes and cell cycle progressing in human colon cancer cell lines: Colo-320 and SW1116. *Cell Res.* 2004; 14(3): 217-226.
37. Brueckner B, Garcia R, Siedlecki P, Musch T, Kliem H, Zielenkiewicz P, et al. Epigenetic Reactivation of Tumor Suppressor Genes by a Novel Small-Molecule Inhibitor of Human DNA Methyltransferases. *Cancer Res.* 2005; 65(14): 6305-6311.
38. Lin X, Asgari K, Putzi MJ, Gage WR, Yu X, Cornblatt BS, et al. Reversal of GSTP1 CpG Island Hypermethylation and Reactivation of π -Class Glutathione S-Transferase (GSTP1) Expression in Human Prostate Cancer Cells by Treatment with Procainamide. *Cancer Res.* 2001; 61(24): 8611-8616.
39. Villar Garea A, Fraga MF, Espada J, Esteler M. Procaine Is a DNA-demethylating Agent with Growth-inhibitory Effects in Human Cancer Cells. *Cancer Res.* 2003; 63(16): 4984-4989.
40. Datta J, Ghoshal K, Denny WA, Gamage SA, Brooke DG, Phiasivongsa P, et al. A New Class of Quinoline-Based DNA Hypomethylating Agents Reactivates Tumor Suppressor Genes by Blocking DNA Methyltransferase 1 Activity and Inducing Its Degradation. *Cancer Res.* 2009; 69(10): 4277-85.
41. Cameron EE, Bachman KE, Myohanen S, Herman JG, Baylin SB. Synergy of demethylation and histone deacetylase inhibition in the reexpression of genes silenced in cancer. *Nat Genet.* 1999; 21(1):103-107.
42. Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6(1): 38-51.
43. Pruitt K, Zinn RL, Ohm JE, Mcgarvey KM, Kang SH, Watkins DN, et al. Inhibition of SIRT1 reactivates silenced cancer genes without loss of promoter DNA hypermethylation. *PLoS Genet.* 2006; 2(3). e40.
44. Marks PA, Richon VM, Rifkind RA. Histone Deacetylase Inhibitors: Inducers of Differentiation or Apoptosis of Transformed Cells. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92(15):1210-1216.
45. Chen YX, Fang JY, Zhu HY, Lu R, Cheng ZH, Qiu DK. Histone acetylation regulates p21WAF1 expression in human colon cancer cell lines. *World J Gastroenterol.* 2004; 10(18): 2643-2646.
46. Glaser KB, Staver MJ, Waring JF, Stender J, Ulrich RG, Davidsen SK. Gene Expression Profiling of Multiple Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors: Defining a Common Gene Set Produced by HDAC Inhibition in T24 and MDA Carcinoma Cell Lines. *Mol Cancer Ther.* 2003; 2(2): 151-163.
47. Drummond DC, Noble CO, Kirpotin DB, Guo Z, Scott GK, Benz CC. Clinical development of histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2005; 45: 495-528.