

REVISTA MEXICANA DE MASTOLOGÍA

Vol. 10, Número 2, Mayo - Agosto 2020

Epigenética y el cáncer de mama

Epigenética del cáncer de mama

Epigenética: la clave de la regulación
genética

Las propiedades epigenéticas y anticáncer
del ácido valproico



www.mastologia.org.mx



LA UNIÓN ES LA SALUD
Y LA SALUD ES LA UNIÓN



Editor en Jefe

Dr. David Eduardo Muñoz González
Ginecólogo Oncólogo

Co-Editor en Jefe

Dr. Jesús Miguel Lázaro León
*Departamento de Oncología
Centro Médico ABC*

Editor Huésped

Dr. en C. Ismael Vásquez Moctezuma
*Coordinación del área de Morfología
Maestría en Ciencias de la Salud, ESM-IPN*

Consejo Editorial

Ginecología Oncológica

Ana Cristina Arteaga Gómez
Instituto Nacional de Cancerología

Oncología Médica

Alberto Alvarado Miranda
Instituto Nacional de Cancerología

Cirujano Oncólogo

Dr. Rafael Vázquez Romo
INCan

Cirugía Oncológica

María Teresa Ramírez Ugalde
Instituto Nacional de Cancerología

Genética Oncológica

Silvia Vidal Millán
Instituto Nacional de Cancerología

Patología Oncológica Médica

Verónica Bautista Piña
FUCAM AC

Radio Oncología

María Adela Poitevin Chacón
Médica Sur

Comité Editorial

Isabelle Aloi-Timeus Salvato
Fundación Salvati, AC

Raquel Gerson Cwilich
Centro Médico ABC

Carlos Daniel Robles Vidal
Instituto Nacional de Cancerología

Paula Anel Cabrera Galeana
Instituto Nacional de Cancerología

Juan Enrique Bargallo Rocha
Instituto Nacional de Cancerología

Rosa María Álvarez
Instituto Nacional de Cancerología

Patricia Cortés Esteban
*Centro Médico Nacional 20 de
Noviembre ISSSTE*

Enrique Soto Pérez De Celis
Instituto Nacional de Nutrición SZ

Carlos Alberto Domínguez Reyes
FUCAM AC

Hugo Domínguez Malagón
Instituto Nacional de Cancerología

Alberto Alvarado Miranda
Instituto Nacional de Cancerología

Antonio Maffuz Aziz
Centro Médico ABC

Erika Ruiz García
Instituto Nacional de Cancerología

Claudia Arce Salinas
Instituto Nacional de Cancerología

Juan W Zinser Sierra
Instituto Nacional de Cancerología

La Revista Mexicana de Mastología es el Órgano Oficial de la Asociación Mexicana de Mastología, AC. Publicación cuatrimestral. Los artículos y fotografías son responsabilidad exclusiva de los autores. La reproducción parcial o total de este número podrá hacerse siempre que se cite a la Revista y su autor como fuente. Toda correspondencia debe dirigirse al editor de la revista a: Amsterdam 124, Despacho 102, Col. Hipódromo Condesa, Deleg. Cuauhtémoc, 06170, Ciudad de México. Editor responsable: Dr. David Eduardo Muñoz González. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No 04-2014-031413213400-102. ISSN No 1870-2821. Certificado de Licitud de Título y de Contenido (en trámite).

La Revista Mexicana de Mastología ha sido registrada en bibliotecas e índices electrónicos en internet:

LATINDEX, Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, <http://www.latindex.org/>

Biblioteca del Instituto de Biotecnología de la UNAM, <http://www.biblioteca.ibt.unam.mx/revistas.php>

Medigraphic, <http://www.medigraphic.org.mx>

Google Académico, <http://scholar.google.com.mx>

Arte, diseño, composición tipográfica, pre prensa, impresión y acabado por Graphimedic, SA de CV. Tels. 55 8589-8527 al 32. E-mail: emyc@medigraphic.com
Impreso en México.



Presidente

Dr. Víctor Manuel Pérez Sánchez

Vicepresidente

Dra. Isabel Alvarado Cabrero

Secretario

Dra. Eva Ruvalcaba Limón

Tesorero

Dr. David Eduardo Muñoz González

1er. Vocal

Dra. Ana Elena Martín Aguilar

2do. Vocal

Dra. Rocío Crystal Grajales Álvarez

3er. Vocal

Dra. Nereida Esparza Arias

Comisión de Honor y Justicia

Dra. Ma. Adela Poitevin Chacón
Dr. Sinuhé Barroso Bravo
Dr. Enrique Bargalló Rocha

Comisión de Cirugía Oncológica

Dra. Nereida Esparza Arias
Dr. Carlos Robles Vidal
Dr. Antonio Maffuz Aziz
Dr. Rafael Vázquez Romo
Dra. Ma. Teresa Ramírez Ugalde

Comisión de Epidemiología

Dr. Alejandro Mohar Betancourt

Comisión de Genética

Dra. Silvia Vidal Millán

Comisión de Biología Molecular

Dr. Ismael Vásquez Moctezuma

Comisión de Oncología Médica

Dra. Claudia Arce Salinas
Dr. Fernando Lara Medina
Dr. Miguel Lázaro León
Dra. Cynthia Villarreal Garza
Dra. Paula Cabrera Galeana
Dr. Jaime de la Garza Salazar
Dr. Juan Zinser Sierra
Dr. Alberto Alvarado Miranda

Comisión de Patología

Dra. Verónica Bautista Piña

Dra. Mercedes Hernández González

Dr. Héctor Santiago Payán
Dra. Fanny Porras Reyes
Dr. Gerónimo Tavares Macías
Dr. Aldo Alcaraz Wong
Dra. Gabriela Gómez Macías
Dra. Graciela Velázquez Delgado
Dra. Tania Álvarez Domínguez
Dra. Yolanda Ortiz Mancisidor
Dr. Pedro Fonz Enríquez

Citopatología

Dra. Mónica Serrano Arévalo
Dra. Lidia Villegas González
Dra. Lorena Flores Hernández

Comisión de Radiología y Ultrasonido

Dra. Yolanda Villaseñor Navarro
Dra. Lesvia Aguilar Cortázar
Dra. Ma. del Carmen Lara Tamburrino
Dra. Patricia Pérez Badillo

Comisión de Radio Oncología

Dra. Ma. Adela Poitevin Chacón
Dra. Christian Flores Balcázar
Dr. Gabriel Santiago Concha
Dr. Jesús Zamora Moreno-Varaona

Comisión de Rehabilitación y Linfedema

Dra. Verónica Cedillo Compeán

Comisión de Psicología

Psic. Lizette Gálvez Hernández

Comisión de Ginecología Oncológica

Dr. Eduardo Barragán Curiel
Dra. Cristina Arteaga Gómez
Dr. Armen Stankov Dragan

Comité de Excelencia en Gestión Oncológica

Mtra. Edith Aguilar Monroy

Comisión de Prevención de Cáncer de Mama

Dr. Rolando Flores Lázaro

Grupos de Apoyo

Sra. María del Carmen Forgach Marcor
Sra. Guadalupe Mayorga Malabehar
Lic. Enrique Contreras Barrón

Representante con los estados

Dr. Jesús Cárdenas Sánchez

Enfermería Oncológica

Enf. Sofía Cruz Romero
L.E.O María Citlaly Cruz Porras

Arte y Cultura

Mtro. Miguel Díaz Carballo
Dra. Patricia Pérez Badillo

Acción Social

Dra. Ariadna Rechy Rivera
Sra. Guadalupe Mayorga Malabehar



CONTENIDO

Editorial

- Epigenética y el cáncer de mama
Ismael Vásquez Moctezuma 37

Trabajos de revisión

- Epigenética del cáncer de mama
Ismael Vásquez-Moctezuma,
Estefanía Fernández-Navarrete,
Juan Manuel Márquez-Mendoza,
Gabriela Rebeca Luna-Palencia 39
- Epigenética: la clave de la regulación genética
Gabriela Rebeca Luna-Palencia,
Ismael Vásquez-Moctezuma 48
- Las propiedades epigenéticas y anticáncer
del ácido valproico
Gabriela Rebeca Luna-Palencia,
Estefanía Fernández-Navarrete,
Ismael Vásquez-Moctezuma 54
-



CONTENTS

Editorial

- Epigenetics and breast cancer*
Ismael Vásquez Moctezuma 37

Reviews

- Epigenetics of breast cancer*
Ismael Vásquez-Moctezuma,
Estefanía Fernández-Navarrete,
Juan Manuel Márquez-Mendoza,
Gabriela Rebeca Luna-Palencia 39
- Epigenetics: the key to genetic regulation*
Gabriela Rebeca Luna-Palencia,
Ismael Vásquez-Moctezuma 48
- The epigenetic and anticancer properties
of valproic acid*
Gabriela Rebeca Luna-Palencia,
Estefanía Fernández-Navarrete,
Ismael Vásquez-Moctezuma 54
-



Epigenética y el cáncer de mama

Epigenetics and breast cancer

Ismael Vásquez Moctezuma*

* Profesor de pregrado y postgrado de la Escuela Superior de Medicina del IPN, México.

Es para los autores un honor que se nos haya invitado a contribuir con un grupo de revisiones científicas para este número especial de la Revista Mexicana de Mastología, agradecemos infinitamente al grupo de editores y directivos de la Asociación Mexicana de Mastología esta distinción.

En la Escuela Superior de Medicina del IPN estudiamos fármacos anticáncer con mecanismos de acción de tipo epigenético, como el ácido valproico. También, se investiga con el diseño y síntesis de nuevos profármacos anticáncer. Este proceso va desde la concepción de una molécula, hasta los análisis *in silico*, la síntesis química y las pruebas biológicas en diferentes modelos de cáncer tanto celulares como animales. Nuestro grupo de trabajo se ha enfocado en las pruebas biológicas en cultivos celulares donde exploramos, entre otros fenómenos, los mecanismos de muerte celular. El identificar estos procesos nos puede ayudar a proponer terapias sinérgicas con fármacos ya conocidos con actividad anticáncer.^{1,2}

La epigenética en medicina es un área que cada día comprende nuevos hallazgos y aplicaciones en diferentes aspectos de la medicina que incluyen el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de múltiples enfermedades humanas. Se han propuesto marcadores novedosos para el cáncer humano y de manera específica para el cáncer de mama, lo que ha llamado poderosamente la atención es que los cambios

epigenéticos se pueden modificar con cambios de estilo de vida, alimentación, incorporación de alimentos que ayudan a cambiar la metilación de genes, etcétera. Lo más destacable es el hecho de que se han incorporado al arsenal terapéutico del cáncer humano medicamentos capaces de modificar los procesos epigenéticos. Lo que es claro es el concepto de «hacer más susceptibles las células malignas al tratamiento anticáncer» e incluso prevenir el desarrollo de neoplasias malignas de cabeza y cuello como lo hace el ácido valproico. Tres revisiones están dedicadas a los mecanismos básicos de la epigenética, a la aplicación en el cáncer en general y en el cáncer de mama. La intención de éstas es interesar al lector biomédico por esta nueva área de la medicina.³

Por otra parte, en el tercer número del volumen 10 de esta revista, presentamos dos revisiones: una nos habla de los modelos animales en los estudios básicos, estos trabajos nos ayudan a comprender el uso de estas herramientas en la investigación, su diversificación donde podemos constatar que se han desarrollado modelos muy útiles de ratones *knockout* prácticamente a la medida de las necesidades de la investigación. También se aclara qué es lo que se puede esperar de los modelos biológicos y cuáles son sus límites y dificultades inherentes de su uso.

Otra revisión aborda los fármacos epigenéticos que han sido aprobados por la FDA para estudios clínicos, con la finalidad de identificar

Correspondencia:

Ismael Vásquez
Moctezuma

E-mail:

g17isma65@gmail.com



Citar como: Vásquez MI. Epigenética y el cáncer de mama. Rev Mex Mastol. 2020; 10 (2): 37-38. <https://dx.doi.org/10.35366/97712>



los aspectos adversos y las áreas de oportunidad para mejorar el abordaje terapéutico con este tipo de medicamentos. Esto ayuda a plantear nuevas estrategias de terapia para los pacientes con cáncer de mama.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mendieta-Wejebe JE, Silva-Trujillo A, Bello M, Mendoza-Figueroa HL, Galindo-Alvarez NL, Albores A et al Exploring the biotransformation of N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide (an aryl valproic acid derivative) by CYP2C11, using *in silico* predictions and *in vitro* studies. *J Pharm Pharmacol.* 2020; 72 (7): 938-955.
2. Martínez-Ramos F, Luna-Palencia GR, Vásquez-Moctezuma I, Méndez-Luna D, Fragoso-Vázquez MJ, Trujillo-Ferrara J et al. Derivative (S)-5- amino-2-(heptan-4-ylamino)-5-oxopentanoic Acid (Gln-VPA) on HDAC8 with biological evaluation in HeLa cells. *Anticancer Agents Med Chem.* 2016; 16 (11): 1485-1490.
3. Luna-Palencia GR, Correa-Basurto J, Trujillo-Ferrara J, Meraz-Ríos MA, Vásquez-Moctezuma I. Epigenetic evaluation of N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide, a valproic acid aryl derivative with activity against HeLa cells. *Curr Mol Pharmacol.* 2020. doi: 10.2174/1874467213666200730113828. Online ahead of print.



Epigenética del cáncer de mama

Epigenetics of breast cancer

Ismael Vásquez-Moctezuma,* Estefanía Fernández-Navarrete,*
Juan Manuel Márquez-Mendoza,* Gabriela Rebeca Luna-Palencia†

* Área de Morfología de la
Maestría en Ciencias de la Salud
de la Escuela Superior de
Medicina del Instituto
Politécnico Nacional, CDMX.
† Departamento de
Biotecnología del
CINVESTAV-IPN, CDMX.

RESUMEN

Existen alteraciones genéticas bien caracterizadas que se relacionan de manera directa con la carcinogénesis, que incluyen amplificaciones, deleciones, mutaciones puntuales, reordenamientos cromosómicos y aneuploidía. Aparte de estas alteraciones se suman al origen del cáncer las alteraciones epigenéticas que generan una expresión de genes aberrantes y que contribuyen a la tumorigénesis. Se destaca que las modificaciones son de interés como blancos terapéuticos o en la prevención debido a que son reversibles. Las modificaciones epigenéticas son cambios moleculares que pueden modificar el fenotipo celular y el perfil de expresión génica de una célula, que son heredables durante la mitosis de las células somáticas (y algunas veces operan en la línea germinal), pero no incluyen cambios en la secuencia del ADN. Los mecanismos moleculares epigenéticos son la metilación del ADN, las modificaciones de histonas, los ARNs pequeños no codificantes o los ARN antisentido. Estas alteraciones están interconectadas y son importantes en el crecimiento y desarrollo normales de la glándula mamaria.

Palabras clave: Epigenética, cáncer de mama, HDACs, HATs, miARNs.

ABSTRACT

There are well-characterized genetic alterations directly related to carcinogenesis, including amplifications, deletions, point mutations, chromosomal rearrangements and aneuploidy. Apart from these alterations, epigenetic alterations that generate aberrant gene expression and contribute to tumorigenesis are added to the origin of cancer. It is emphasized that the modifications are of interest as therapeutic targets or in prevention because they are reversible. Epigenetic modifications are molecular changes that can modify the cellular phenotype and gene expression profile of a cell, which are heritable during somatic cell mitosis (and sometimes operate in the germline), but do not include changes in the sequence of the DNA. Epigenetic molecular mechanisms are DNA methylation, histone modifications, small non-coding RNAs, or antisense RNAs. These alterations are interconnected and are important in normal growth and development of the mammary gland.

Keywords: Epigenetics, breast cancer, HDACs, HATs, miRNAs.

Correspondencia:

Dr. Ismael Vásquez-Moctezuma

Salvador Díaz Mirón esq.
Plan de San Luis S/N,
Miguel Hidalgo, Casco de
Santo Tomas, 11340 Ciudad
de México, CDMX.



Citar como: Vásquez-Moctezuma I, Fernández-Navarrete E, Márquez-Mendoza JM, Luna-Palencia GR. Epigenética del cáncer de mama. Rev Mex Mastol. 2020; 10 (2): 39-47. <https://dx.doi.org/10.35366/97713>



LA METILACIÓN DEL ADN Y SU PARTICIPACIÓN EN EL CÁNCER DE MAMA

La metilación del ADN es la adición de un grupo metilo en el carbono cinco del anillo de la citocina. La metilación se realiza en las secuencias o «islas» 5'-CpG-3'. Estas islas tienen una longitud de entre 500 a 5,000 pb y se reparten aproximadamente cada 100 mil pares de bases. Aproximadamente, la mitad de los genes contiene este tipo de secuencias, y están presentes tanto en genes *house keeping* como en aquellos con patrones de expresión específicos de tejido. La metilación del ADN la realizan las enzimas ADN metiltransferasas (DNMT). Las DNMT transfieren grupos metilo, donados por la S-adenosil metionina, a las islas CpG.¹⁻³ En el humano se sabe que las DNMT1, DNMT3a y DNMT3b tienen actividad catalítica de metiltransferasa. La enzima DNMT1 se dedica a hemimetilar sobre el ADN no metilado y tiene su actividad en los sitios de replicación. Por tanto, DNMT1 copia el patrón de metilación del ADN molde en la hebra hija recién sintetizada, por esta acción se le considera una metiltransferasa de mantenimiento de las metilaciones. La DNMT3a y DNMT3b son metiltransferasas *de novo*, tienen actividad de la metiltransferasa hacia el ADN no metilado. Normalmente estas enzimas DNMT se expresan de forma ubicua, en bajos niveles en tejidos.³ Sin embargo, se ha visto que se sobreexpresan en diferentes tipos de cáncer como: colorrectal, próstata, ovario, endometrio y mama.⁴⁻⁹

Con respecto al cáncer de seno, en un trabajo en el cual se evaluaron 130 carcinomas de mama no metastásicos unilaterales primarios, la cantidad de mRNA de las enzimas DNMT1, DNMT3a y DNMT3b se correlacionaron positivamente entre sí, esto sugiere una regulación coordinada. En 30% de estas pacientes se detectó sobreexpresión de DNMT3b y sólo se identificó sobreexpresión de 5.4% para DNMT1 y de 3.1% para DNMT3a. Se concluyó que una alta expresión de DNMT3b se correlaciona con mayor grado histológico, falta de receptor de estrogénico α y presencia del marcador de Ki67, lo que pudiera indicar la participación de DNMT3b en la progresión y agresividad del cáncer de mama.^{4,5} También

se asoció la alta expresión de DNMT3b con reducción del tiempo de supervivencia libre de enfermedad en el grupo de pacientes que recibieron terapia hormonal.^{4,5}

La metilación de la isla CpG de las regiones promotoras puede afectar la expresión transcripcional de genes y estimular la carcinogénesis en dos situaciones: (I) las islas CpG normalmente no metiladas pueden metilarse de manera anormal generando el silenciamiento de genes supresores de tumores, y (II) las islas CpG que normalmente están metiladas pueden desmetilarse, esto lleva a la activación de oncogenes y retrotransposones.¹⁰ Otros genes silenciados por la hipermetilación son los que inhiben la invasión, la metástasis, la reparación del ADN, el receptor hormonal, la homeostasis celular, los de adhesión intercelular, así como los que inhiben la progresión del ciclo celular, la angiogénesis y la supervivencia celular. Hasta el momento, se han descrito más de 100 genes que están hipermetilados en líneas celulares y tumores de cáncer de mama.^{11,12} Existen ejemplos de genes cuyos promotores se metilan en el cáncer de mama: ciclina D2 (CCND2) que regula el ciclo celular,¹³ el gen p16ink4A/CDKN2A que expresa un regulador del ciclo celular, el gen de la cadherina-3 (CDH3) que codifica para una molécula de adhesión celular significativo para la invasión y metástasis, el factor *High in normal-1* (HIN1) que es inhibidor del crecimiento celular, la migración y la invasión, los genes típicos del cáncer de mama como son ER- α , ER- β y BRCA1.¹³⁻¹⁹ La pérdida de expresión de ER- β se asocia con la transición de carcinomas ductales *in situ* a invasivos, y este silenciamiento se relaciona con la hipermetilación.²⁰ También existe metilación del promotor de BRCA1 en cánceres de mama esporádicos.²¹ Como se ve, el silenciamiento génico por hipermetilación de los promotores de los genes es un mecanismo común de carcinogénesis de mama, por lo que tiene un gran potencial para la prevención y el tratamiento del cáncer.

El análisis de alta resolución de la hipometilación de secuencias de ADN en el cáncer de mama demostró alrededor de 1,500 regiones hipometiladas de una manera específica.^{22,23}

Aunque el cáncer de mama puede clasificarse en distintas subclases histológicas, no existen diferencias importantes en los patro-

nes de metilación del ADN entre los cánceres de mama ductal y lobulillar.^{24,25} De manera independiente, se observaron diferentes perfiles epigenéticos en los tumores de mama clasificados según su estado del receptor hormonal.²⁶ Los genes examinados estaban en menor medida metilados en tumores ER negativos en comparación con los positivos. Las mutaciones en el gen p53 también se han asociado con patrones de metilación diferencial en el cáncer de mama, donde los tumores con mutaciones de p53 suelen estar hipometilados en comparación con los tumores con p53 de tipo silvestre.²⁶

CAMBIOS DE ACETILACIÓN Y DESACETILACIÓN DE HISTONAS

La regulación epigenética de los genes es un mecanismo en el que las enzimas acetiltransferasas de histonas (HAT) pegan acetilo en los aminoácidos lisina (grupo épsilon amino) de las colas de histona, lo que neutraliza la carga positiva es este aminoácido, relajando el ADN y permitiendo que las proteínas de la transcripción puedan acceder al gen, proceso asociado al encendido de genes. La eliminación de los grupos acetilo, por medio de las enzimas desacetilasas de histonas (HDACs), compacta el ADN sobre el octámero de histonas, de tal forma que el gen se apaga.²⁷⁻²⁹ Se conocen 18 HDAC humanas que se agrupan en cuatro clases de acuerdo con su homología con proteínas de levadura. Éstos son: clase I (HDAC1, 2, 3 y 8), clase II (HDAC4, 5, 6, 7, 9, 10), clase III o sirtuinas y son homólogas con Sir2 (SIRT1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7) y la clase IV (HDAC11) que tienen homología con las enzimas de clase I y II. El grupo de clase III es una categoría especial dado que depende de NAD⁺, mientras que los otros grupos requieren Zn²⁺ como cofactor. Debido a su importancia en la regulación de genes y su expresión diferente tanto en el mRNA como en la cantidad de proteínas, las HDAC son de gran interés en el cáncer, incluido el cáncer de mama.²⁷ La expresión de HDAC1 se observó en 40% y HDAC3 en 44% de los casos de cáncer de mama, los niveles de proteína y de mRNA de HDAC1 y los niveles de proteína HDAC3 estaban elevados en tumores positivos para el ER y para el receptor de pro-

gesterona (PR).^{30,31} La expresión de HDAC1 y HDAC3 se correlacionó con el receptor de hormonas esteroides, HER2/neu y el estado de proliferación del cáncer de mama.^{32,33} Esto se confirmó en pacientes con tumores de mama invasivos, ya que los niveles de expresión de la proteína HDAC1 predicen la supervivencia libre de enfermedad, pero no la supervivencia general. Se ha informado que la expresión de mRNA de HDAC6 es importante en tumores pequeños, de bajo grado, ER y PR positivos en comparación con cánceres con receptores de hormonas negativos de alto grado.³⁴ Estos datos señalan que la investigación de HDAC puede aplicarse en el pronóstico del cáncer de mama y tratamientos específicos.

El cáncer de mama es heterogéneo, va desde hiperplasia premaligna hasta carcinomas invasivos y metastásicos. El análisis de un grupo bien caracterizado de carcinomas de mama mostró que existe correlación entre el estado global de las modificaciones de las histonas, el fenotipo del biomarcador tumoral y el resultado clínico. Se detectaron niveles altos de acetilación y metilación de histonas casi de manera exclusiva en tumores de mama de tipo luminal y esto se correlacionó con un buen pronóstico.³⁵ Por el contrario, se detectó menor acetilación y metilación de histonas (como H3K18ac, H4K12ac, H3K4me2, H4K20me3 y H4R3me2) en los carcinomas basales y esto se asoció con una mala respuesta a los tratamientos. Este análisis también mostró que la mayoría de los casos de cáncer de seno tienen una acetilación del tipo H4K16ac en baja cantidad o ausente, lo que sugiere que esta modificación puede ser un marcador temprano de cáncer de mama.^{35,36} El cáncer de mama parece presentar cambios de histonas que controlan genes específicos. Se demostró que en la línea celular MCF-7/TAMR resistente al tamoxifeno de cáncer de mama, el ER-β se silencia debido al reclutamiento de enzimas que producen modificaciones de histonas, y que crean un ambiente de heterocromatina en la vecindad del promotor, dificultando la transcripción del gen.³ En la región del promotor se observaron marcas de cromatina con cambios que indican represión como 2meK9H3, 3meK9H3, 2meK27H3 y 3meK27H3.¹⁻³ Esto es consistente con hallazgos previos con otros genes asociados con

el control del crecimiento que muestran que 3meK27H3 está asociado con el silenciamiento de genes.³⁷⁻³⁹ Los patrones de expresión de enzimas que modifican histonas se asocian con el pronóstico del cáncer de mama. Se demostró que la sobreexpresión de *enhancer of zeste homolog 2* (EZH2), que forma parte del complejo represivo polycomb 2 (PRC2) y su función es la metilación de la histona 3 lisina 27 (H3K27), se correlaciona con cáncer de mama agresivo y de mal pronóstico.^{40,41}

LOS MICRORNA EN EL CÁNCER DE MAMA

Estos pequeños ARNs llamados microRNAs, de 17 a 22 bases de longitud, han inundado la literatura científica desde hace décadas. Para algunas de estas moléculas se conoce un poco de su función, de otras no tanto, pero lo que ha ayudado mucho son los estudios que correlacionan la abundancia de éstos con algún tipo de tumor, con la evolución y el pronóstico. Estos ARNs tienen una función importante en la regulación de procesos biológicos y patológicos. Su función se relaciona con el desarrollo de la glándula mamaria normal. Sin embargo, en un estudio comparativo que examinó la expresión de miRNA en mujeres jóvenes y adultas, durante el embarazo, la lactancia y la involución mamaria, se detectaron siete grupos de miRNAs, esto basado en su expresión temporal, asociando varias familias de miRNA con diferentes fases del ciclo mamario.⁴² Algunos miRNAs (el miR-25 y miR-17e92) se relacionan con el cáncer de mama basal agresivo y se expresan de manera primordial durante la pubertad y la gestación, lo que demuestra su participación en la fisiología mamaria.⁴² De manera adicional, los miRNA (como let-7), que están involucrados con el fenotipo diferenciado, aumentan durante la pubertad y el embarazo. Se observó mayor expresión de miR-29 durante la involución posterior a la lactación, esta evidencia indica que la expresión del miR-29 se involucra con la remodelación de la mama. Los perfiles de análisis de los miRNAs demuestran que se regulan con baja expresión en diferentes tipos de cáncer de seno.

Asimismo, se asoció la regulación a la baja de algunos miRNAs con características

clínico-patológicas, como es el caso de ER/PgR positivos, tamaño del tumor, ganglios linfáticos y expresión de p53. En etapas tempranas de la progresión del cáncer de mama, la expresión de otro microARN llamado let-7 se elimina, mientras que su expresión se asocia con tumores luminales del tipo A de bajo grado y ER positivo.^{43,44} En modelos de ratón se observa que la expresión de let-7 está regulada a la baja en subpoblaciones de células mamarias con propiedades de tipo célula madre y durante la transición epitelio-mesénquima (EMT).^{45,46} Además, la falta de expresión de los miembros de la familia let-7 se correlaciona con características clínicas, como el estado de PR, ganglios linfáticos positivos (let-7f-1, let-7a-3 y let-7a-2) o un índice de proliferación elevado (let-7c y let-7d).⁴⁷

MIRNAS IMPORTANTES EN EL CÁNCER DE MAMA

Los miR-34 (tres miRNAs) están regulados de manera positiva por la transcripción de p53 e influye en una serie de genes implicados en la proliferación celular y la apoptosis, incluido Bcl-2.^{48,49} En líneas celulares obtenidas a partir de tumores ER-/PR-/HER2-neu, los niveles de miR-34 son bajos, lo que demuestra la mayor incidencia de mutaciones en el gen p53 y la falta de función de la proteína en este subtipo tumoral.⁵⁰ En el desarrollo temprano del cáncer de mama se identificó la disminución de los miRNAs llamados miR-125a y miR-125b. La expresión del microRNA miR-205 se pierde al inicio del cáncer de mama, pero si su expresión persiste, entonces se relaciona con la presencia de marcadores inmunohistoquímicos basales, en los tumores ER/PR/HER2 negativos.⁴³ El miR-205 se correlaciona con el comportamiento de las células madre en una línea celular de la glándula mamaria murina, aunque en la mama madura se expresa principalmente en células mioepiteliales basales diferenciadas.⁴⁵ Para el caso de la familia miR-10, que está formada por miR-10a y miR-10b, el miR-10a se encuentra sobreexpresado en el cáncer de mama y se correlaciona con el pronóstico en los tumores de mama ER positivos.^{51,52} También se ha demostrado que la sobreexpresión de miR-10b inicia la invasión y la metástasis en un

modelo de xenoinjerto murino de cáncer de mama a través de su orientación a HOXD10.⁵³ Uno de los primeros miRNAs oncogénicos caracterizados fue el miR-21, que se regula al alza en numerosos tumores, un hallazgo realizado en el glioblastoma y en el cáncer de mama.^{30,53} La expresión de este microRNA en los tumores de mama se correlacionó con la metástasis en estadio avanzado y se caracteriza por una supervivencia deficiente de manera independiente del grado y el estadio.^{31,55} La eliminación de miR-21, por medio de ARN antisentido, reduce el crecimiento tumoral derivado de la línea de cáncer de mama triple negativa MCF-7 en modelos de xenoinjerto mediante la disminución de la proliferación y el aumento de la apoptosis, posiblemente debido a que el mRNA de Bcl-2 es objetivo de estos microRNAs.⁵⁶ Se han detectado más blancos de miR-21 que incluyen la fosfatasa supresora de tumores PTEN en el carcinoma hepatocelular y mamario.³¹ El grupo miR-17e92 inhibe la proliferación de células de cáncer de seno en cultivo celular, dirigiéndose directamente a la ciclina D1.³¹ Se informó que otros miembros del grupo estaban sobreexpresados en tumores sólidos, incluidos los de pulmón y mama.⁴⁷ Existe evidencia de que las firmas de expresión de miRNA pueden utilizarse en el futuro como biomarcadores tumorales para el diagnóstico y la estratificación del riesgo de los pacientes.

ESTRATEGIAS EPIGENÉTICAS COMO TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

En la actualidad, las nuevas estrategias de tratamiento que se centran en las alteraciones epigenéticas ofrecen más esperanza que las terapias existentes debido a la reversibilidad de las modificaciones epigenéticas. El establecimiento y mantenimiento de alteraciones epigenéticas se basan en las funciones de las enzimas DNMT y HDAC, que son los principales objetivos de la terapia epigenética. Los tratamientos epigenéticos actuales del cáncer de mama se enfocan en revertir la metilación alterada del ADN y la acetilación de histonas que controlan los genes supresores de tumores. Las combinaciones de terapias dirigidas que utilizan agentes epigenéticos con fármacos quimioterapéuticos conven-

cionales son prometedoras para resensibilizar tumores quimiorresistentes.⁵⁷

INHIBIDORES DE LAS ENZIMAS DNMTS Y HDACS COMO TRATAMIENTO EPIGENÉTICO

Los fármacos que se utilizan para eliminar la metilación son azacitidina (5-azacitidina), decitabina (5-aza-2'-desoxicitidina, 5-aza-dc), flarabina (1-β-d-arabinofurasonil-5-azacitosina) y dihidro-5-azacitidina.⁵⁸ Estos son derivados de la desoxicitidina con algunas modificaciones en la quinta posición del anillo de pirimidina. La zebularina y los oligodesoxinucleótidos antisentido también se utilizan para modificar la metilación del ADN.⁵⁹ La 5-azacitidina se usó originalmente como antimetabolito nucleósido con especificidad clínica para tratar la leucemia mieloide aguda.⁶⁰ Debido a que es capaz de activarse al nucleósido trifosfato e incorporarse tanto en el ADN como en el ARN, el tratamiento de las células con 5-azacitidina condujo a la inhibición de la síntesis de ADN, ARN y proteínas.⁶¹ Otro fármaco la 5-aza-dc sólo se incorpora al ADN y es 10 veces más citotóxico que la 5-azacitidina para células y animales en cultivo.⁶² La incorporación de 5-aza o 5-aza-2'-dc en el ADN de las células cultivadas lleva a una pérdida de la enzima DNMT porque se une de manera irreversible al ADN.⁶³ Estudios preclínicos con 5-aza-2'-dc han demostrado que disminuye la metilación en varias líneas celulares y en células de pacientes con leucemia humana.^{64,65} Los ensayos clínicos en tumores mostraron tasas de respuesta inferiores a 10%.⁵⁸ Sin embargo, los ensayos sobre neoplasias hematológicas han tenido más éxito. Un estudio aleatorizado evaluó la combinación de amsacrina y etopósido con los mismos dos agentes más 5-aza-dc para el tratamiento de la leucemia mieloide aguda infantil resistente a la inducción. La tasa de respuesta fue mayor con la combinación de tres fármacos.⁶⁶

Con respecto a los inhibidores de HDACs se agrupan en varias clases estructurales, incluidos hidroxamatos, péptidos cíclicos, ácidos alifáticos y benzamidas.⁶⁷ Entre estos fármacos tenemos a la tricostatina A (TSA) [7-[4-(dimetilamino) fenil] -N-hidroxi-4,6-dimetil-7-oxo-(2E, 4E, 6R)-2,4 heptadienamida], un inhibidor

de HDAC, se aisló inicialmente como un agente antimicótico. Sin embargo, se ha demostrado que es un agente anticanceroso que estimula la diferenciación de las células de eritroleucemia murina (MEL) y se identifica como un agente que actúa sobre las enzimas HDACs. También se ha demostrado que la TSA tiene la capacidad de detener células en las fases G1 y G2 del ciclo celular, provocar diferenciación y revertir la morfología maligna de las células en cultivo.⁶⁸ El ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA) [N-hidroxi-N-feniloctanodiamida, vorinostat, Zolinza[®]] es un ácido hidroxámico, se correlaciona estructuralmente con el producto natural TSA. Los ácidos hidroxámicos tienen una alta afinidad por el Fe (III), Ni (II) y Zn (II).⁶⁹ El SAHA genera una fuerte inhibición a concentraciones nanomolares para HDAC de clase I y clase II a través de la coordinación con el cofactor catalítico de Zn (II).⁷⁰ Los inhibidores de HDAC estimulan el aumento en el estado de acetilación de histonas y factores de transcripción que resulta tanto al aumento como al descenso de la expresión de un número limitado de genes.^{71,72} Los inhibidores de HDAC estimulan la expresión del gen p21WAF1, lo que se asocia con un aumento en la acetilación de histonas dentro de la región promotora de p21WAF1.^{73,74} Estos datos indican que p21WAF1 es un gen blanco de los inhibidores de HDAC. También se ha demostrado que SAHA provoca modificaciones específicas en la acetilación y metilación de lisinas en las histonas H3 y H4 dentro del promotor del gen p21WAF1.⁷³

Se sabe que la hipermetilación del gen ER- β está implicada en el desarrollo de resistencia al tamoxifeno.⁷⁵ Existen enfoques para superar la resistencia al tamoxifeno por medio del uso de inhibidores de HDAC y DNMT combinados con el tamoxifeno. En la línea celular derivada de melanoma MDA-MB-435, con fenotipo de receptores ER-negativo y PR-negativo, ER- α se reexpresó mediante tratamiento con 5-aza-dc o TSA.⁷⁶

CONCLUSIONES

El conocimiento acumulado sobre los procesos epigenéticos así como el mapeo de los genes regulados por estos mecanismos, como es el caso de las secuencias de ADN hipometiladas e

hipermetiladas y cómo impacta la regulación de genes en los diferentes tipos de cáncer humano, la caracterización de las miríadas de genes que codifica para la familia de los miARNs y la regulación postraducciona de las colas de histonas por mecanismos de acetilación y desacetilación, nos llevará a diseñar tratamientos combinados entre las terapias clásicas contra el cáncer humano y las novedosas terapias epigenéticas.

Aparentemente, las células cancerosas adquieren un patrón complejo de lesiones genéticas y epigenéticas que pueden incluso llegar a interrelacionarse. Por el contrario, las aberraciones estructurales en el gen DNMT3b pueden ser en parte responsables del aumento de la expresión de DNMT3b y, en consecuencia, de la hipermetilación de genes críticos en tumores humanos. Agregando complejidad a esto, tales relaciones genéticas-epigenéticas específicas pueden no encontrarse necesariamente en todos los tipos de tumores; la metilación de BRCA1, por ejemplo, se observa únicamente en los cánceres de mama y ovario, pero está casi ausente en otros tipos de cáncer. Se requieren más investigaciones para desentrañar la pregunta de cómo se establece y mantiene el hipermetiloma en una célula cancerosa. El uso de alteraciones epigenéticas como medio de detección de tumores o tejidos adyacentes puede ayudar a los médicos a mejorar el pronóstico y brindar opciones de tratamiento más efectivas para pacientes con cáncer de mama.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo del CONACYT a los becarios de maestría: Estefanía Fernández Navarrete (CVU 1019994), Juan Manuel Márquez Mendoza (CVU 956327). Este trabajo es parte del proyecto de investigación apoyado por la SIP (20200722).

BIBLIOGRAFÍA

1. Brait M, Sidransky D. Cancer epigenetics: above and beyond. *Toxicol Mech Methods*. 2011; 21 (4): 275-278.
2. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*. 2011; 21 (3): 381-395.
3. Bogdanović O, Lister R. DNA methylation and the preservation of cell identity. *Curr Opin Genet Dev*. 2017; 46: 9-14.

4. Kanai Y, Hirohashi S. Alterations of DNA methylation associated with abnormalities of DNA methyltransferases in human cancers during transition from a precancerous to a malignant state. *Carcinogenesis*. 2007; 28 (12): 2434-2442.
5. Girault I, Tozlu S, Lidereau R, Bieche I. Expression analysis of DNA methyltransferases 1, 3A, and 3B in sporadic breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2003; 9 (12): 4415-4422.
6. Issa JP, Vertino PM, Wu J, Sazawal S, Celano P, Nelkin BD et al. Increased cytosine DNA-methyltransferase activity during colon cancer progression. *J Natl Cancer Inst*. 1993; 85 (15): 1235-1240.
7. Mizuno S, Chijiwa T, Okamura T, Akashi K, Fukumaki Y, Niho Y et al. Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia. *Blood*. 2001; 97 (5): 1172-1179.
8. Eads CA, Danenberg KD, Kawakami K, Saltz LB, Danenberg PV, Laird PW. CpG island hypermethylation in human colorectal tumors is not associated with DNA methyltransferase overexpression. *Cancer Res*. 1999; 59 (10): 2302-2306.
9. Patra SK, Patra A, Zhao H, Dahiya R. DNA methyltransferase and demethylase in human prostate cancer. *Mol Carcinog*. 2002; 33 (3): 163-171.
10. Jovanovic J, Ronneberg JA, Tost J, Kristensen V. The epigenetics of breast cancer. *Mol Oncol*. 2010; 4 (3): 242-254.
11. Hinshelwood RA, Clark SJ. Breast cancer epigenetics: normal human mammary epithelial cells as a model system. *J Mol Med (Berl)*. 2008; 86 (12): 1315-1328.
12. Widschwendter M, Jones PA. DNA methylation and breast carcinogenesis. *Oncogene*. 2002; 21: 5462-5482.
13. Evron E, Dooley WC, Umbricht CB, Rosenthal D, Sacchi N, Gabrielson E et al. Detection of breast cancer cells in ductal lavage fluid by methylation-specific PCR. *Lancet*. 2001; 357 (9265): 1335-1336.
14. Herman JG, Merlo A, Mao L, Lapidus RG, Issa JP, Davidson NE et al. Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer Res*. 1995; 55 (22): 4525-4530.
15. Graff JR, Herman JG, Lapidus RG, Chopra H, Xu R, Jarrard DF et al. E-cadherin expression is silenced by DNA hypermethylation in human breast and prostate carcinomas. *Cancer Res*. 1995; 55 (22): 5195-5199.
16. Romanov SR, Kozakiewicz BK, Holst CR, Stampfer MR, Haupt LM, Tlsty TD. Normal human mammary epithelial cells spontaneously escape senescence and acquire genomic changes. *Nature*. 2001; 409 (6820): 633-637.
17. Krop I, Parker MT, Bloushtain-Qimron N, Porter D, Gelman R, Sasaki H et al. HIN-1, an inhibitor of cell growth, invasion, and AKT activation. *Cancer Res*. 2005; 65 (21): 9659-9669.
18. Krop IE, Sgroi D, Porter DA, Lunetta KL, LeVangie R, Seth P et al. HIN-1, a putative cytokine highly expressed in normal but not cancerous mammary epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98 (17): 9796-9801.
19. Yang X, Yan L, Davidson NE. DNA methylation in breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2001; 8 (2): 115-127.
20. Skliris GP, Munot K, Bell SM, Carder PJ, Lane S, Horgan K et al. Reduced expression of oestrogen receptor beta in invasive breast cancer and its re-expression using DNA methyltransferase inhibitors in a cell line model. *J Pathol*. 2003; 201 (2): 213-220.
21. Dobrovic A, Simpfendorfer D. Methylation of the BRCA1 gene in sporadic breast cancer. *Cancer Res*. 1997; 57 (16): 3347-3350.
22. Novak P, Jensen T, Oshiro MM, Watts GS, Kim CJ, Futscher BW. Agglomerative epigenetic aberrations are a common event in human breast cancer. *Cancer Res*. 2008; 68 (20): 8616-8625.
23. Shann YJ, Cheng C, Chiao CH, Chen DT, Li PH, Hsu MT. Genome-wide mapping and characterization of hypomethylated sites in human tissues and breast cancer cell lines. *Genome Res*. 2008; 18 (5): 791-801.
24. Bae YK, Brown A, Garrett E, Bornman D, Fackler MJ, Sukumar S et al. Hypermethylation in histologically distinct classes of breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2004; 10 (18): 5998-6005.
25. Fackler MJ, McVeigh M, Evron E, Garrett E, Mehrotra J, Polyak K et al. DNA methylation of RASSF1A, HIN-1, RAR-beta, Cyclin D2 and twist in situ and invasive lobular breast carcinoma. *Int J Cancer*. 2003; 107 (6): 970-975.
26. Feng W, Shen L, Wen S, Rosen DG, Jelinek J, Hu X et al. Correlation between CpG methylation profiles and hormone receptor status in breast cancers. *Breast Cancer Res*. 2007; 9 (4): R57.
27. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet*. 2009; 10 (1): 32-42.
28. Bosch-Presegue L, Vaquero A. The dual role of sirtuins in cancer. *Genes Cancer*. 2011; 2 (6): 648-662.
29. Peng L, Seto E. Deacetylation of nonhistone proteins by HDACs and the implications in cancer. *Handb Exp Pharmacol*. 2011; 206: 39-56.
30. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res*. 2005; 65 (16): 7065-7070.
31. Huang GL, Zhang XH, Guo GL, Huang KT, Yang KY, Shen X et al. Clinical significance of miR-21 expression in breast cancer: SYBR-Green I-based real-time RT-PCR study of invasive ductal carcinoma. *Oncol Rep*. 2009; 21 (3): 673-679.
32. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Ando Y, Mita K et al. Quantitation of HDAC1 mRNA expression in invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat*. 2005; 94 (1): 11-16.
33. Krusche CA, Wulfig P, Kersting C, Vloet A, Bocker W, Kiesel L et al. Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2005; 90 (1): 15-23.
34. Saji S, Kawakami M, Hayashi S, Yoshida N, Hirose M, Horiguchi S et al. Significance of HDAC6 regulation via estrogen signaling for cell motility and prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncogene*. 2005; 24 (28): 4531-4539.
35. Chervona Y, Costa M. Histone modifications and cancer: biomarkers of prognosis? *Am J Cancer Res*. 2012; 2 (5): 589-597.

36. Elsheikh SE, Green AR, Rakha EA, Powe DG, Ahmed RA, Collins HM et al. Global histone modifications in breast cancer correlate with tumor phenotypes, prognostic factors, and patient outcome. *Cancer Res.* 2009; 69 (9): 3802-3809.
37. Cao R, Wang L, Wang H, Xia L, Erdjument-Bromage H, Tempst P et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. *Science.* 2002; 298 (5595): 1039-1043.
38. Kuzmichev A, Nishioka K, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Reinberg D. Histone methyltransferase activity associated with a human multiprotein complex containing the enhancer of Zeste protein. *Genes Dev.* 2002; 16 (22): 2893-2905.
39. Kirmizis A, Bartley SM, Kuzmichev A, Margueron R, Reinberg D, Green R et al. Silencing of human polycomb target genes is associated with methylation of histone H3 Lys 27. *Genes Dev.* 2004; 18 (13): 1592-1605.
40. Kleer CG, Cao Q, Varambally S, Shen R, Ota I, Tomlins SA et al. EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100 (20): 11606-11611.
41. Pietersen AM, Horlings HM, Hauptmann M, Langerod A, Ajouaou A, Cornelissen-Steijger P et al. EZH2 and BMI1 inversely correlate with prognosis and TP53 mutation in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2008; 10 (6): R109.
42. Avril-Sassen S, Goldstein LD, Stingl J, Blenkinson C, Le Quesne J, Spiteri I et al. Characterization of microRNA expression in post-natal mouse mammary gland development. *BMC Genomics.* 2009; 10: 548.
43. Sempere LF, Christensen M, Silahatoglu A, Bak M, Heath CV, Schwartz G et al. Altered microRNA expression confined to specific epithelial cell subpopulations in breast cancer. *Cancer Res.* 2007; 67 (24): 11612-11620.
44. Blenkinson C, Goldstein LD, Thorne NP, Spiteri I, Chin SF, Dunning MJ et al. MicroRNA expression profiling of human breast cancer identifies new markers of tumor subtype. *Genome Biol.* 2007; 8 (10): R214.
45. Ibarra I, Erlich Y, Muthuswamy SK, Sachidanandam R, Hannon GJ. A role for microRNAs in maintenance of mouse mammary epithelial progenitor cells. *Genes Dev.* 2007; 21 (24): 3238-3243.
46. Dangi-Garimella S, Yun J, Eves EM, Newman M, Erkeland SJ, Hammond SM et al. Raf kinase inhibitory protein suppresses a metastasis signaling cascade involving LIN28 and let-7. *EMBO J.* 2009; 28 (4): 347-358.
47. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature.* 2005; 435 (7043): 834-838.
48. Bommer GT, Gerin I, Feng Y, Kaczorowski AJ, Kuick R, Love RE et al. p53-mediated activation of miRNA34 candidate tumor-suppressor genes. *Curr Biol.* 2007; 17 (15): 1298-1307.
49. Zhang L, Huang J, Yang N, Greshock J, Megraw MS, Giannakakis A et al. microRNAs exhibit high frequency genomic alterations in human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103 (24): 9136-9141.
50. Kato M, Paranjape T, Muller RU, Nallur S, Gillespie E, Keane K et al. The mir-34 microRNA is required for the DNA damage response in vivo in *C. elegans* and in vitro in human breast cancer cells. *Oncogene.* 2009; 28 (25): 2419-2424.
51. Hoppe R, Achinger-Kawecka J, Winter S, Fritz P, Lo WY, Schroth W et al. Increased expression of miR-126 and miR-10a predict prolonged relapse-free time of primary oestrogen receptor-positive breast cancer following tamoxifen treatment. *Eur J Cancer.* 2013; 49 (17): 3598-3608.
52. Parrella P, Barbano R, Pasculli B, Fontana A, Copetti M, Valori VM et al. Evaluation of microRNA-10b prognostic significance in a prospective cohort of breast cancer patients. *Mol Cancer.* 2014; 13: 142.
53. Ma L, Teruya-Feldstein J, Weinberg RA. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature.* 2007; 449 (7163): 682-688.
54. Chan JA, Krichevsky AM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res.* 2005; 65 (14): 6029-6033.
55. Yan LX, Huang XF, Shao Q, Huang MY, Deng L, Wu QL et al. MicroRNA miR-21 overexpression in human breast cancer is associated with advanced clinical stage, lymph node metastasis and patient poor prognosis. *RNA.* 2008; 14 (11): 2348-2360.
56. Si ML, Zhu S, Wu H, Lu Z, Wu F, Mo YY. miR-21-mediated tumor growth. *Oncogene.* 2007; 26 (19): 2799-2803.
57. Luna-Palencia GR, Correa-Basurto J, Vásquez-Moctezuma I. El ácido valproico como agente sensibilizador al tratamiento anticáncer. *Gac Med Mex.* 2019; 155 (4): 417-422.
58. Goffin J, Eisenhauer E. DNA methyltransferase inhibitors-state of the art. *Ann Oncol.* 2002; 13 (11): 1699-1716.
59. Cheng JC, Matsen CB, Gonzales FA, Ye W, Greer S, Marquez VE et al. Inhibition of DNA methylation and reactivation of silenced genes by zebularine. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95 (5): 399-409.
60. Cihak A. Biological effects of 5-azacytidine in eukaryotes. *Oncology.* 1974; 30 (5): 405-422.
61. Cihak A, Vesely J. Effects of 5-aza-2'-deoxycytidine on DNA synthesis in mouse lymphatic tissues. *Neoplasma.* 1978; 25 (4): 385-393.
62. Flatau E, Gonzales FA, Michalowsky LA, Jones PA. DNA methylation in 5-aza-2'-deoxycytidine-resistant variants of C3H 10T1/2 Cl8 cells. *Mol Cell Biol.* 1984; 4 (10): 2098-2102.
63. Christman JK, Schneiderman N, Acs G. Interaction of DNA methyltransferase and other non-histone proteins isolated from friend erythroleukemia cell nuclei with 5-azacytosine residues in DNA. *Prog Clin Biol Res.* 1985; 198: 105-118.
64. Momparler RL, Bouchard J, Onetto N, Rivard GE. 5-aza-2'-deoxycytidine therapy in patients with acute leukemia inhibits DNA methylation. *Leuk Res.* 1984; 8 (2): 181-185.
65. Momparler RL, Momparler LF, Samson J. Comparison of the antileukemic activity of 5-AZA-2'-deoxycytidine, 1-beta-d arabinofuranosylcytosine and 5-azacytidine against L1210 leukemia. *Leuk Res.* 1984; 8 (6): 1043-1049.
66. Steuber CP, Krischer J, Holbrook T, Camitta B, Land V, Sexauer C et al. Therapy of refractory or recurrent childhood acute myeloid leukemia using amsacrine and etoposide with or without azacitidine: a Pediatric Oncology Group randomized phase II study. *J Clin Oncol.* 1996; 14: 1521-1525.

67. Miller TA, Witter DJ, Belvedere S. Histone deacetylase inhibitors. *J Med Chem.* 2003; 46 (5): 5097-5116.
68. Yoshida M, Horinouchi S, Beppu T. Trichostatin A and trapoxin: novel chemical probes for the role of histone acetylation in chromatin structure and function. *Bioessays.* 1995; 17 (5): 423-430.
69. Codd R, Braich N, Liu J, Soe CZ, Pakchung AA. Zn(II)-dependent histone deacetylase inhibitors: suberoylanilide hydroxamic acid and trichostatin A. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009; 41 (4): 736-739.
70. Richon VM, Emiliani S, Verdin E, Webb Y, Breslow R, Rifkind RA et al. A class of hybrid polar inducers of transformed cell differentiation inhibits histone deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95 (6): 3003-3007.
71. Butler LM, Zhou X, Xu WS, Scher HI, Rifkind RA, Marks PA et al. The histone deacetylase inhibitor SAHA arrests cancer cell growth, up-regulates thioredoxin-binding protein-2, and down-regulates thioredoxin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99 (18): 11700-11705.
72. Glaser KB, Li J, Staver MJ, Wei RQ, Albert DH, David-son SK. Role of class I and class II histone deacetylases in carcinoma cells using siRNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 310 (2): 529-536.
73. Gui CY, Ngo L, Xu WS, Richon VM, Marks PA. Histone deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101 (5): 1241-1246.
74. Richon VM, Zhou X, Secrist JP, Cordon-Cardo C, Kelly WK, Drobnjak M et al. Histone deacetylase inhibitors: assays to assess effectiveness in vitro and in vivo *Methods Enzymol.* 2004; 376: 199-205.
75. Chang HG, Kim SJ, Chung KW, Noh DY, Kwon Y, Lee ES et al. Tamoxifen-resistant breast cancers show less frequent methylation of the estrogen receptor beta but not the estrogen receptor alpha gene. *J Mol Med (Berl).* 2005; 83 (2): 132-139.
76. Yang X, Ferguson AT, Nass SJ, Phillips DL, Butash KA, Wang SM et al. Transcriptional activation of estrogen receptor alpha in human breast cancer cells by histone deacetylase inhibition. *Cancer Res.* 2000; 60 (24): 6890-6894.

www.medigraphic.org.mx



Epigenética: la clave de la regulación genética

Epigenetics: the key to genetic regulation

Gabriela Rebeca Luna-Palencia,* Ismael Vásquez-Moctezuma[†]

* Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados.

[†] Área de Morfología de la Maestría en Ciencias de Salud de la Escuela Superior de Medicina.

Instituto Politécnico Nacional, México, CDMX.

RESUMEN

El estudio de la epigenética ha permitido explicar los procesos que conducen a diferentes enfermedades como el cáncer humano, la obesidad, la diabetes y otras más. Lo que ha entusiasmado a los investigadores de esta área es el hecho de que los cambios epigenéticos sobre el genoma son reversibles, lo que puede tener impacto positivo en la salud humana. Aquí se describen de manera muy general los diferentes procesos que logran la regulación genética como son la metilación y desmetilación del ADN en las islas CpG, las modificaciones postraduccionales de las histonas, y los llamados micro ARN (miRNA) que cada día muestran su influencia en diferentes procesos normales y patológicos.

Palabras clave: Regulación epigenética, impronta genética, metilación, acetilación, miRNA.

ABSTRACT

The study of epigenetics has made it possible to explain the processes that lead to different diseases such as human cancer, obesity, diabetes and others. What has excited researchers in this area is the fact that epigenetic changes on the genome are reversible, which can have a positive impact on human health. Here the different processes that achieve genetic regulation are described in a very general way, such as, methylation and demethylation of DNA in the CpG islands, post-translational modifications of histones and the so-called micro RNA (miRNA) that each day shows their influence on different normal and pathological processes.

Keywords: Epigenetic regulation, genomic imprinting, methylation, acetylation, miRNA.

Correspondencia:
Gabriela Rebeca Luna-Palencia
E-mail:
galuna@cinvestav.mx



En abril de 2003, se concluyó la secuenciación del genoma humano mediante el Proyecto Genoma Humano, el cual dotó de la información básica para saber cómo los genes están posicionados en nuestros cromosomas. Sin embargo, aún era necesario saber cómo la información contenida en las secuencias de bases del ADN puede convertirse en proteínas y crear estructuras celulares y cómo se controla este proceso. Los mecanismos que controlan la expresión de

unas proteínas y otras no, son tan importantes que básicamente, con la misma información en su genoma acerca de la síntesis de proteínas, se diferencian un tipo celular de otro y permiten la especialización. Estos mecanismos que mantienen la identidad de tejido y la función específica tienen que ver con la actividad del ADN sin alterar su secuencia de bases y no son explicados por la genética clásica. La actividad del ADN puede modificarse por el ambiente

Citar como: Luna-Palencia GR, Vásquez-Moctezuma I. Epigenética: la clave de la regulación genética. Rev Mex Mastol. 2020; 10 (2): 48-53. <https://dx.doi.org/10.35366/97714>

celular mediante procesos o reacciones químicas que se conocen como «mecanismos epigenéticos».

La palabra epigenética tiene el prefijo griego *epi* que significa en o sobre, dando a entender que estudia algo que está por fuera de lo que abarca la genética tradicional. En 1942, Conrad Waddington usó por primera vez el término «epigenética» y la definió como «una rama de la Biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, los cuales dan el fenotipo a un organismo». En la actualidad, la definición más aceptada es que la epigenética **«es el estudio de los cambios en la función genética que son mitóticamente y/o meióticamente heredables y que no implican un cambio en la secuencia del ADN»**.¹ El control genético se lleva a cabo por modificaciones covalentes reversibles entre las bases del ADN y las proteínas con las que se asocia en el núcleo, dando lugar a un nuevo código que es campo de estudio de la epigenética.

Es importante recalcar que los cambios genéticos son estructurales y, por tanto, irreversibles; mientras que los cambios epigenéticos en los que influye nuestro estilo de vida e impactan nuestra salud y la de generaciones futuras son funcionales y, por tanto, reversibles. Y existen grandes ejemplos de estos, quizás el más icónico fue conocido como la hambruna Holandesa referido como *Dutch Hunger Winter* en la Segunda Guerra Mundial, que fue consecuencia del bloqueo de alimentos y combustibles hacia Holanda occidental por parte de los alemanes, en el periodo de septiembre de 1944 hasta la liberación del país del dominio Nazi, en mayo de 1945. El bloqueo, aunado a un invierno crudo, originó muchas muertes; debido a que esta hambruna estuvo muy bien documentada, fue posible medir sus efectos en la salud humana, principalmente se pudo establecer una relación entre la falta de alimentación que sufrieron las mujeres embarazadas en esos momentos y la salud de su descendencia. Las investigaciones epidemiológicas encontraron que los niños nacidos de esas madres sometidas a dietas de inanición durante el embarazo dieron a luz a bebés que en su desarrollo mostraron ser más propensos a la diabetes, las enfermedades cardíacas y la obesidad, y mostraban ser más propensos a desarrollar enfermedades men-

tales como esquizofrenia, respecto a los hijos de madres con buena alimentación durante el embarazo;² además, la propensión a desarrollar estas enfermedades también se observaba en sus nietos. Estos hechos sugerían que la alimentación de la abuela podría afectar la salud de varias generaciones, implicando que una adaptación a su ambiente produjo un rasgo heredable, lo cual no era aceptable en ese momento, ya que sería un mecanismo de herencia que no se basaba en la modificación de la secuencia del ADN.¹

Estudios demostraron que hay mecanismos de herencia que no implican cambios en la secuencia, sino que involucran modificaciones químicas del ADN y/o de la estructura de la cromatina, modulando la expresión de los genes, por lo que el fenotipo de cada individuo es resultado no sólo de su genoma sino también de su epigenoma. Ahora sabemos que lo que describió Waddington es, en gran parte, atribuible a mecanismos epigenéticos de regulación genética.

Algunos mecanismos epigenéticos que controlan la expresión genética incluyen la metilación del ADN, las modificaciones postraduccionales de las histonas y el silenciamiento por microRNA (miRNA), entre otros.

METILACIÓN DEL ADN E IMPRONTA GENÓMICA

La metilación del ADN ocurre cuando un grupo metilo (-CH₃) se une covalentemente al carbono 5 de la citosina en el ADN genómico por medio de una enzima conocida como DNMT (ADN metiltransferasa), que transfiere el grupo metilo de la S-adenosil metionina, para formar la 5-metil-citosina (*Figura 1*). En el humano se conocen tres metiltransferasas: Dnmt1, Dnmt3a y Dnmt3b. La enzima Dnmt1, tiene su actividad en los sitios de replicación y copia el patrón de metilación del ADN molde en la hebra hija recién sintetizada, por esta acción se le considera una metiltransferasa de mantenimiento de las metilaciones. La Dnmt3a y Dnmt3b son metiltransferasas *de novo* y tienen actividad de la metiltransferasa hacia el ADN no metilado. Normalmente estas enzimas DNMT se expresan en los tejidos de forma ubicua y en bajos niveles.³ Esta metilación se da más



Figura 1: Metilación de la citosina del ADN mediante la ADN metiltransferasa (DNMT).

en citosinas seguidas por guaninas (CG) en la secuencia nucleotídica. Cerca del 70-80% de las CG del genoma humano están metiladas y se conocen como Islas CpG (p se refiere al fosfato entre las bases). Existen excepciones en las que las islas CpG están demetiladas como es el caso de la inactivación del cromosoma X en las mujeres y de los genes sujetos a impronta genómica. En estos casos, las islas CpG presentan metilación diferencial donde uno de los dos cromosomas está completamente metilado en las secuencias de las islas CpG mientras que la misma secuencia en el otro cromosoma está demetilado.⁴

Las metilaciones del ADN constituyen marcas epigenéticas que lo modifican y pueden heredarse por la madre o el padre a la descendencia, esto se conoce como impronta genómica. En la reproducción sexual de los mamíferos, se heredan dos copias (alelos) de cada gen, uno de la madre y otro del padre, ambos son activos de manera transcripcional y funcional. Sin embargo, en la impronta genómica, sólo un alelo de cada gen es transcripcionalmente activo y el otro es silenciado, lo cual se establece en la línea germinal de cada progenitor durante la gametogénesis y se mantiene a través del desarrollo somático de la descendencia. Las marcas epigenéticas de cada línea germinal pueden controlar el silenciamiento o activación alelo-específica de muchos genes vecinos, dando lugar a *clusters* en el genoma.⁵ En 1991, se identificó el primer gen con impronta genómica en ratón, *Igf2r* (Insulin-like growth factor 2), expresado sólo del alelo materno.⁶ Todos los genes con impronta genómica muestran expresión monoalélica específica del padre o de la madre y su expresión correcta es esencial para que el desarrollo, el crecimiento fetal, el

metabolismo y el comportamiento en la edad adulta sean normales.⁷

En humanos, el gen *IGF2* (Insulin-like growth factor 2) también está sujeto a impronta genómica, por lo que sólo el alelo *IGF2* paterno se transcribe en tejidos normales y la regulación de su expresión está dada por metilaciones en regiones conocidas como DMR (Differentially Methylated Regions), que son regiones ricas en CpG. La metilación solamente se presenta en el alelo heredado del padre a sus hijos y los cambios que ocurren en la metilación establecida en las DMR dan lugar a la pérdida de la impronta y a una transcripción alterada de *IGF2*. En 2013, se encontró que la obesidad del padre está asociada con una hipometilación de las DMR del *IGF2*; esta hipometilación también se encuentra en los hijos de padres obesos⁸ y en los hijos sexagenarios de las madres de la Hambruna Holandesa.¹ Estos estudios sugirieron que factores como el estilo de vida de los padres se pueden transmitir a la siguiente generación por mecanismos epigenéticos.

Las regiones del genoma asociadas con metilación de las citosinas en las regiones promotoras junto con histonas marcadas con modificaciones represivas están reprimidas transcripcionalmente y se conocen como **heterocromatina**. En contraste, las regiones en las que las citosinas no están metiladas junto con modificaciones activadoras en las histonas se encuentran en un estado que permite la transcripción y se conoce como **eucromatina**.⁴

Generalmente, el nivel de metilación del ADN en la región promotora de un gen se correlaciona inversamente con la transcripción genética, ya que debido a la compactación de la cromatina no es posible el acceso de las proteínas de unión al ADN para el reco-

nocimiento de la secuencia. En el caso de las células de cáncer, la metilación de las islas CpG en el promotor de los genes supresores de tumores no reprime la expresión, ya que ésta puede ser regulada por la unión de un factor de transcripción.⁹ Sin embargo, hay muchos datos que dan soporte a que la metilación en las islas CpG del promotor reprime la expresión genética, lo cual es reforzado por los hallazgos encontrados cuando las células con represión mediada por metilación son tratadas con inhibidores de las enzimas DNMT y muestran pérdida en la metilación en estas

regiones y, en consecuencia, un incremento en la expresión genética.¹⁰⁻¹³

MODIFICACIONES DE LAS HISTONAS

En la mayoría de los núcleos de células eucariotas, el ADN tiene una longitud cercana a los dos metros, por lo que para poder mantenerse dentro del núcleo celular el ADN se compacta, formando la cromatina. La unidad fundamental de la cromatina es el nucleosoma, que consiste en un núcleo formado por un octámero de histonas, alrededor del cual se enrollan aproxi-

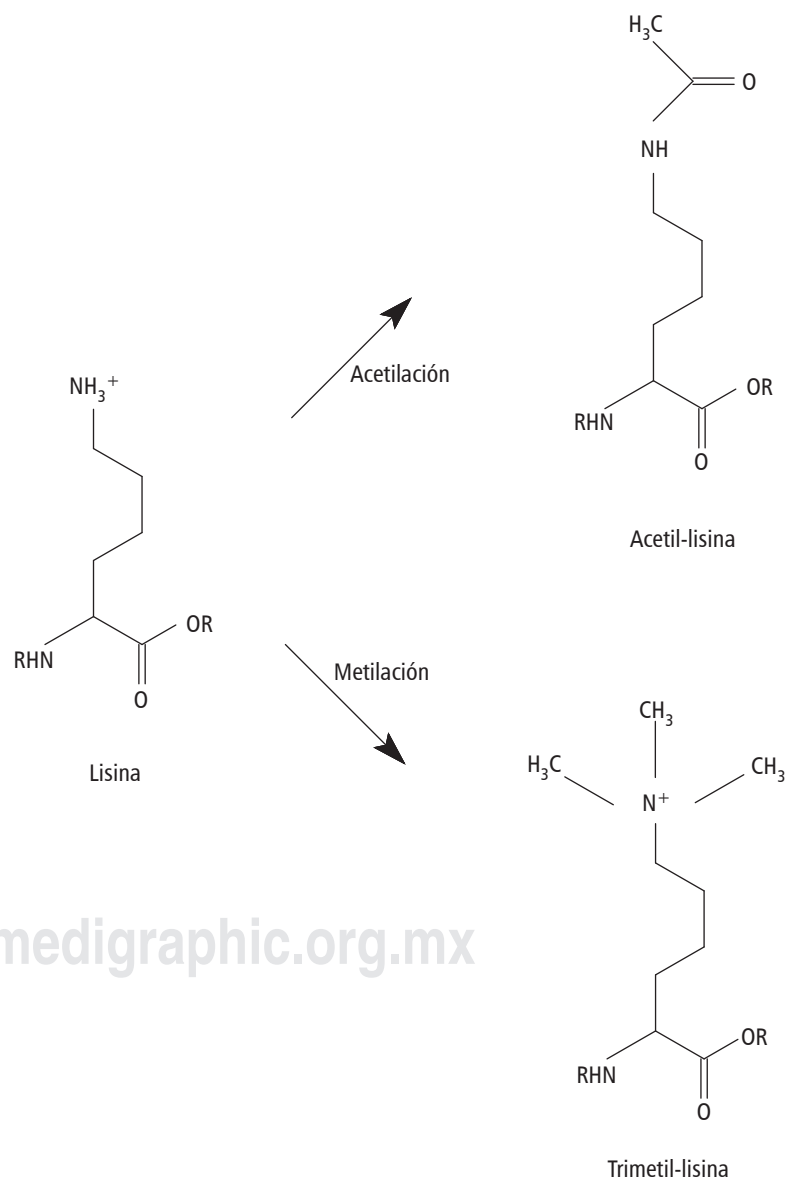


Figura 2:
Modificaciones epigenéticas de las histonas: acetilación y metilación de las lisinas presentes en los extremos N-terminal de las histonas.

madamente 147 pares de bases de ADN (ADN bicatenario), que corresponden a 1.7 vueltas. El octámero de histonas a su vez está constituido por un tetrámero central de proteínas H3-H4 asociados a dos dímeros proteicos H2A-H2B. Además, secciones pequeñas de ADN sirven para mantener a los nucleosomas unidos mediante una proteína de unión conocida como histona H1, dándole a la cromatina una apariencia de un collar de cuentas. El 75% de la masa del octámero de histonas forma una estructura globular sobre la cual se envuelve el ADN, el 25% restante consiste en las porciones N-terminales de cada una de las ocho histonas, que se proyectan hacia afuera del nucleosoma y se conocen como «colas de histonas». Las colas de histonas, ricas en residuos de lisina y arginina, son susceptibles a modificaciones químicas que pueden regular la expresión de los genes, destacando por ser las más estudiadas hasta el momento, las acetilaciones y metilaciones de las lisinas (Figura 2); aunque también se cuentan las fosforilaciones, ubiquitinaciones, sumoilaciones y ADP-ribosilaciones. Estos procesos son mediados por enzimas que adicionan o remueven tales modificaciones, por ejemplo, las acetiltransferasas de histonas (HAT) y las desacetilasas de histonas (HDAC) llevan a cabo el proceso de acetilación/desacetilación de histonas, modificando la estructura de la cromatina y en consecuencia, la expresión genética. Estas proteínas que adicionan o eliminan estas modificaciones postranscripcionales se conocen como *writers* o *erasers*, respectivamente. Las HAT transfieren grupos acetilo que provienen de la acetil Co-A a los residuos de lisina de las colas de histonas (Figura 2); esta adición del grupo acetilo, neutraliza la carga positiva de los residuos de la lisina de las histonas, disminuyendo la atracción con el ADN (cargado negativamente), permitiendo el acceso a factores de transcripción y a la ARN polimerasa. Por otro lado, las HDAC remueven los grupos acetilo, disminuyendo la accesibilidad de factores de transcripción y de la ARN polimerasa.^{1,14,15} La mayoría de las HAT humanas funcionan como coactivadores de la transcripción. La función más estudiada de este grupo de proteínas es la acetilación de las colas de histonas, pero también se conoce que poseen una función citoplásmica al acetilar varios factores de transcripción y otras

proteínas. De la misma manera, las HDAC son conocidas fundamentalmente por desacetilar histonas, pero además tienen la capacidad de desacetilar otras proteínas, que se localizan de manera primordial en el citoplasma, como tubulina, p53, Hsp90, Bcl-2 y Ku70.¹⁶

Mientras que en la acetilación de histonas solamente se puede adicionar un grupo acetilo a una lisina (K) en la cola N-terminal de la histona, en el proceso de metilación es posible mono-, di- o trimetilar una misma lisina (Figura 2). Por ejemplo, la histona H3 está trimetilada en la lisina 4 (H3K4me3) y es una marca de genes activos, en cambio, H3K9me3 constituye una marca de heterocromatina ligada a genes inactivos;¹⁵ la lisina 9 de la histona 3 también puede acetilarse (H3K9ac) y es parte de una cromatina activa para la transcripción.¹ Existe un sistema que refuerza la conformación de la cromatina acetilada y puede reducir la posibilidad de interacción de regiones adyacentes menos acetiladas y la llevan a cabo proteínas con bromodominios, que son módulos protéicos evolutivamente conservados que reconocen histonas acetiladas, se unen a ellas y reclutan a otras proteínas para mantener la conformación abierta de la cromatina para la transcripción.¹

MICRORNA

Los microRNA (miRNA) son ARN pequeños de apenas 18 a 25 nucleótidos que no codifican y su función es reguladora, participan en procesos fundamentales del desarrollo, de diferenciación, de proliferación, de supervivencia y de muerte celular.¹⁷ Se ha visto que la expresión de éstos está desregulada en el cáncer y que son capaces de modificar el fenotipo de las células malignas.¹⁸

Las secuencias que codifican para esta gran familia de miRNA se localizan en las regiones intergénicas e intragénicas y son transcritos por la enzima ARN polimerasa II en cadenas sencillas de un tamaño que varía entre 1 a 3 kb; estos ARN largos se llaman pri-miRNA, éstos sufren un procesamiento adicional, a nivel del núcleo, por las ribonucleasas Drosha y la proteína Pasha que se une a este ARN de doble cadena. Esto genera un producto intermedio de entre 70 a 100 nucleótidos en forma de horquilla y plegado sobre sí mismo llamado pre-miRNA, el cual es conducido fuera del núcleo hacia el citoplas-

ma por la proteína exportina 5 y Ran-GTPasa. En el citoplasma la enzima Dicer procesa el pre-miRNA generando fragmentos de ARN de 22 ribonucleótidos que se ensamblan en un complejo maduro llamado miRISC. La cadena guía de esta horquilla se forma por 21 a 22 nucleótidos de ARN, se asocian con las proteínas Argonauta y GW182 integrando el llamado complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC). Los miRNA hibridan complementado con sus secuencias blanco que se localizan en las regiones 3' no traducidas (3'UTR) de ARN mensajeros específicos. Posteriormente, ya con el complejo RISC asociado a su secuencia 3'-UTR, este ARN mensajero es degradado.¹⁹

BIBLIOGRAFÍA

1. Armstrong L. Post-translational modification of histones. In: Armstrong L ed. Epigenetics. New York; Garland Science. 2014. pp. 59-75.
2. Kyle UG, Pichard C. The Dutch Famine of 1944-1945: a pathophysiological model of long-term consequences of wasting disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006; 9 (4): 388-394.
3. Bogdanović O, Lister R. DNA methylation and the preservation of cell identity. *Curr Opin Genet Dev*. 2017; 46: 9-14.
4. Moylan CA, Murphy SK. DNA methylation basic principles. In: Tollesbol T. eds. Medical Epigenetics. United Kingdom; Academic Press. 2016. pp. 11-29.
5. Wood AJ, Oakey RJ. Genomic imprinting in mammals: emerging themes and established theories. *PLoS Gene*. 2006; 2 (11): e147.
6. Barlow DP, Stöger R, Herrmann BG, Saito K, Scheweifer N. The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Tme locus. *Nature*. 1991; 349 (6304): 84-87.
7. Li Y, Sasaki H. Genomic imprinting in mammals: its life cycle, molecular mechanisms and reprogramming. *Cell Res*. 2011; 21 (3): 466-473.
8. Soubry A, Schildkraut JM, Murtha A, Wang F, Huang Z, Bernal A et al Paternal obesity is associated with IGF2 hypomethylation in newborns: results from a Newborn Epigenetics Study (NEST) cohort. *BMC Med*. 2013; 11 (29): 1-10.
9. Moarii M, Boeva V, Vert JP, Reyat F. Changes in correlation between promoter methylation and gene expression in cancer. *BMC genomics*. 2015; 16 (1): 873.
10. Ferguson AT, Vertino PM, Spitzner JR, Baylin SB, Muller MT, Davidson NE. Role of estrogen receptor gene demethylation and DNA methyltransferase. DNA adduct formation in 5-aza-2'-deoxycytidine-induced cytotoxicity in human breast cancer cells. *J Biol Chem*. 1997; 272 (51): 32260-32266.
11. Yamashita K, Upadhyay S, Osada M, Hoque MO, Xiao Y, Mori M et al. Pharmacologic unmasking of epigenetically silenced tumor suppressor genes in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Cell*. 2002; 2 (6): 485-495.
12. Ibanez de Caceres I, Dulaimi E, Hoffman AM, Al-Saleem T, Uzzo RG, Cairns P. Identification of novel target genes by an epigenetic reactivation screen of renal cancer. *Cancer Res*. 2006; 66 (10): 5021-5028.
13. Matsumura N, Huang Z, Mori S, Baba T, Fujii S, Konishi I et al. Epigenetic suppression of the TGF-beta pathway revealed by transcriptome profiling in ovarian cancer. *Genome Res*. 2011; 21 (1): 74-82.
14. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular biology of the cell. New York: Garland Science, 2008.
15. Sananbenesi F, Fischer A. Histone deacetylases as therapeutic targets in neurodegenerative diseases. In: Tollesbol T. eds. Medical epigenetics. London, United Kingdom; Academic Press. 2016. pp. 33-45.
16. Robey RW, Chakraborty AR, Basseville A, Luchenko V, Bahr J, Zhan Zhirong et al. Histone deacetylase inhibitors: emerging mechanisms of resistance. *Mol Pharmaceutics*. 2011; 8 (6): 2021-2031.
17. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*. 2004; 431 (7006): 350-355.
18. Garzon R, Marcucci G, Croce CM Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9 (10): 775-789.
19. Elliott D, Landomery M: Molecular Biology of RNA. Oxford University Press, 2016.



Las propiedades epigenéticas y anticáncer del ácido valproico

The epigenetic and anticancer properties of valproic acid

Gabriela Rebeca Luna-Palencia,* Estefanía Fernández-Navarrete,† Ismael Vásquez-Moctezuma†

* Departamento de Biotecnología,
CINVESTAV-IPN, CDMX.

† Sección de estudios de
Postgrado e Investigación,
Departamento de Morfología,
MACISA, ESM-IPN.

RESUMEN

El ácido valproico es un fármaco antiepiléptico que se ha utilizado por más de 50 años. Sin embargo, hace unas décadas se descubrió que posee efectos epigenéticos y este hallazgo permitió proponerlo como fármaco anticáncer. Existe amplia evidencia clínica acumulada en el uso de éste y sus efectos en el humano. El dato clínico y epidemiológico que indica su efecto en el cáncer es la observación de que el uso crónico en un grupo muy extenso de pacientes veteranos de guerra disminuye la frecuencia de cáncer de cabeza y cuello. También existen múltiples ensayos en líneas celulares de humano y modelos animales donde se observa un efecto de detención del ciclo celular, inducción de diferenciación y muerte. En esta revisión se analiza la aplicación de este fármaco en combinación con la quimioterapia.

Palabras clave: Ácido valproico, anticáncer, epigenética del cáncer.

ABSTRACT

Valproic acid is an antiepileptic drug that has been used for more than 50 years. However, a few decades ago, it was discovered that it has epigenetic effects, and this finding allowed it to be proposed as an anticancer drug. There is much accumulated clinical evidence on the use of this and its effects on humans. The epidemiological evidence that indicates its effect on cancer is the observation that the chronic use of valproic acid in a very large group of war veteran patients reduces head and neck cancer frequency. There are also multiple assays on human cell lines and animal models where a cell cycle arrest effect, induction of differentiation and death is observed. This review analyzes the application of this drug in combination with chemotherapy.

Keywords: Valproic acid, anticancer, epigenetics of cancer.

Correspondencia:

Ismael Vásquez-
Moctezuma

E-mail:
g17isma65@gmail.com



INTRODUCCIÓN

Al igual que con fármacos como la aspirina, que adicionalmente a su efecto analgésico posee otras propiedades como la capacidad anticoagulante, o como para las estatinas que aparte de disminuir el colesterol son antiinflamato-

rias,^{1,2} el ácido valproico (AVP) inicialmente se elaboró como un análogo del ácido valérico (obtenido de la planta *Valeriana officinalis*) y en 1964 se reportó su efecto antiepiléptico.³⁻⁵ Este medicamento se utiliza en enfermedades como la epilepsia, migraña, hiperactividad, trastorno bipolar y por déficit de atención.⁵ Esta

Citar como: Luna-Palencia GR, Fernández-Navarrete E, Vásquez-Moctezuma I. Las propiedades epigenéticas y anticáncer del ácido valproico. Rev Mex Mastol. 2020; 10 (2): 54-62. <https://dx.doi.org/10.35366/97715>

revisión se enfoca en los usos del AVP como un fármaco inhibidor de las desacetilasas de histona (iHDACs) y con efecto sensibilizador en los fármacos de la quimioterapia tradicional.⁶

EL ORIGEN EPIGENÉTICO DEL CÁNCER HUMANO

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, sólo después de las provocadas por las complicaciones de la diabetes mellitus y de la hipertensión arterial, por lo que se considera un problema de salud pública. Las neoplasias malignas se pueden comportar de modo distinto, tener diferente pronóstico, y evolucionar cada una de manera muy particular; sin embargo, en todas ellas existe un común denominador: la pérdida de la capacidad celular para controlar su proliferación, invadiendo territorios reservados para otras células (metástasis). Esta falta de regulación de la proliferación se debe a las alteraciones en genes supresores de tumores y en protooncogenes que inducen el desarrollo de células malignas. Los cambios genéticos y epigenéticos se van acumulando y combinando con el paso del tiempo, lo que lleva a la transformación neoplásica.⁷

MECANISMOS EPIGENÉTICOS EN EL CÁNCER

Los mecanismos epigenéticos incluyen tres procesos, en primer lugar, cambios en las proteínas de histona por medio de modificaciones postraduccionales como la acetilación y desacetilación, forforilación, sumoilación, metilación. En segundo lugar, metilación de las regiones ricas en citosinas (CpG) llamadas «islas CpG» agrupadas en algunas secuencias del ADN de las regiones promotoras de la mitad de los genes humanos, y que metiladas inhiben la expresión de éstos. En tercer lugar, el mecanismo de bloqueo de ARNs mensajeros por moléculas de microARNs (miARNs). De manera muy general, los procesos epigenéticos actúan en el cáncer por medio de la hipermetilación de regiones promotoras y la desacetilación de histonas que puede apagar genes supresores de tumores y los cambios en la expresión de ciertos miARNs que pueden funcionar con oncogenes. A diferencia de las

alteraciones genéticas que son estructurales e irreversibles como las mutaciones, las epigenéticas son funcionales y por lo tanto, son reversibles.^{8,9}

DESACETILASAS DE HISTONAS (HDACS) Y EL CÁNCER HUMANO

En el núcleo celular, el ADN se enrolla y empaqueta alrededor de estructuras heterotetraméricas constituidas por cuatro proteínas histonas (H2A, H2B, H3 y H4) que forman el nucleosoma, que cuando se condensan integran la cromatina.⁹ Cada histona del nucleosoma tiene una «cola» en el extremo amino-terminal rica en el aminoácido básico lisina, esta prolongación de la histona se extiende por fuera del nucleosoma y la accesibilidad del ADN es en parte controlada por modificaciones de esta «cola» peptídica.¹⁰⁻¹² El proceso de acetilación de histonas y de diferentes proteínas citoplasmáticas se controla mediante dos tipos de enzimas: las acetiltransferasas de histonas (HATs) y las desacetilasas de histonas (HDACs).¹³ Las HATs transfieren grupos acetilo, que provienen de la acetil Co-A, a los residuos de lisina de las colas de histonas; esta adición del grupo acetilo neutraliza la carga positiva de los residuos de la lisina de las histonas, disminuyendo la atracción con el ADN (cargado negativamente), permitiendo el acceso de factores de transcripción y de la enzima ARN polimerasa entre otros conjuntos de proteínas reguladoras. En contraste, las HDACs remueven los grupos acetilo, lo que por lo general disminuye la accesibilidad de factores de transcripción y de la ARN polimerasa.^{12,13}

La mayoría de las HATs humanas participan como coactivadores de la transcripción, la función más estudiada de este grupo de proteínas es la acetilación de las colas de histonas. También se conoce que estas enzimas poseen una función citoplásmica al acetilar proteínas en complejos macromoleculares que actúan corregulando funciones celulares importantes como la expresión de genes por medio de factores de transcripción, el ciclo celular, a proteínas que participan en el *splicing*, procesos de transporte y nucleación de actina.¹⁴ Entre las proteínas del citoplasma que son acetiladas y desacetiladas para regular ciertos aspectos de

su función están la tubulina, p53, Hsp90, Bcl-2 y Ku70.^{14,15}

LA FAMILIA DE LAS DESACETILASAS DE HISTONAS

Se conocen 11 HDACs en el humano y se dividen en cuatro clases, las de clase I, II, III y IV.¹⁴ Se han clasificado de acuerdo a su homología con las HDACs de levadura, localización subcelular y por su actividad enzimática. Son proteínas de 40-55 kDa que depende del Zn⁺ como cofactor y se expresan de manera ubicua en los tejidos humanos e incluyen a las HDACs de clase I, compuesta por las HDAC1, 2, 3 y 8 que son homólogas a las proteínas de levadura y de localización citoplasmática, las HDACs 4,5,7 y 9 son de la clase IIa y se encuentran tanto en el núcleo como en el citoplasma, las de clase IIb en el citoplasma incluyen la HDAC6 (ésta no desacetila histonas) y HDAC 9, finalmente la HDAC 11 se localiza en el citoplasma. Las HDACs de clase III se conocen como sirtuinas y ocupan el NAD como cofactor.¹⁴⁻¹⁶

La función de estas enzimas se ha estudiado principalmente en líneas celulares de cáncer humano y se orienta a los mecanismos como la proliferación donde son importantes las HDAC1, HDAC2, HDAC3 y HDAC8; en la apoptosis destacan la HDAC1 y la HDAC2. Con respecto a la resistencia a la quimioterapia es importante la HDAC1; para la diferenciación, las HDAC3, HDAC4, HDAC5 y HDAC8; en el caso de la angiogénesis, las HDAC4, HDAC6, HDAC7 y HDAC10; y finalmente para la migración, la HDAC6.¹⁷⁻¹⁹ La sobreexpresión de las HDACs se ha visto relacionada con el proceso de tumorigénesis en diferentes tipos de cáncer (Tabla 1).

LOS INHIBIDORES DE LAS DESACETILASAS DE HISTONAS (IHDACS) Y SU APLICACIÓN EN EL CÁNCER HUMANO

Los iHDACs aplicados a líneas celulares transformadas generan diferenciación, detención del ciclo celular e inducen apoptosis. Se ha observado que inhiben el crecimiento tumoral en modelos animales; y muestran actividad antitumoral en ensayos clínicos controlados.²⁰

Además, son capaces de activar el mecanismo de muerte celular llamado autofagia, generan especies reactivas de oxígeno, inhiben la proteína de choque térmico Hsp90 e interrumpen la vía del agresoma.¹⁴

En la actualidad, y con las evidencias acumuladas de que el desarrollo del cáncer se relaciona con hipoacetilación de las histonas, los fármacos con propiedades epigenéticas del tipo inhibidores de las deacetilasas de histonas o iHDACs se han comenzado a introducir en el tratamiento contra el cáncer. Parte del mecanismo de acción de estos fármacos se explica debido a la inhibición de las enzimas deacetilasas, lo que lleva a un aumento en la acetilación de las colas de histonas. Este cambio postraducciona en las histonas reactiva la transcripción de genes supresores de tumores, entre otros, dando la posibilidad de revertir el proceso maligno.¹⁴ En estudios clínicos los iHDACs han mostrado resultados aceptables en el tratamiento de neoplasias hematológicas, por lo que la FDA ha aprobado el suberolinida o SAHA para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T, además de la displasia de médula ósea y la romidepsina para el linfoma de células T. (Sin embargo, en tumores sólidos los resultados son variables y no tan espectaculares.²¹ Cabe mencionar que las aplicaciones para los inhibidores de las HDACs podrían ser útiles en otras enfermedades tan diversas como infecciones virales crónicas, obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus 2, entre otras.⁹

DETENCIÓN DEL CICLO CELULAR POR COMPUESTOS EPIGENÉTICOS

Los mecanismos de los efectos anticáncer de los inhibidores de HDAC no son uniformes; pueden ser diferentes y depender de un tipo de cáncer, del inhibidor de las HDAC y de su dosis así como de otros factores.

Como se entiende, detener el ciclo celular en la célula de cáncer sería importantísimo para evitar el crecimiento tumoral, esto es precisamente lo que hacen los inhibidores de HDACs como el ácido valproico. El principal mecanismo de detención del ciclo celular es el aumento de la expresión de genes como CDKN1A (que codifica para la proteína p21

Tabla 1: Propiedades biológicas de las HDAC.

HDAC	Localización	Alteración en el cáncer	Tumor
Clase I			
HDAC1	Núcleo	Sobreexpresión, baja expresión	Esófago, colon, próstata, CTCL
HDAC2	Núcleo	Sobreexpresión/mutación	Próstata, colon, gástrico, CTCL
HDAC3	Núcleo	Sobreexpresión	Próstata, colon
HDAC8	Núcleo	Sobreexpresión	Colon
Clase IIa			
HDAC4	Núcleo/citoplasma	Sobreexpresión/baja expresión	Próstata, colon, mama
HDAC5	Núcleo/citoplasma	Baja expresión	Colon, AML
HDAC7	Núcleo/citoplasma	Sobreexpresión	Colon
HDAC9	Núcleo/citoplasma	Sobreexpresión/bajaexpresión	Meduloblastoma Astrocitoma
Clase IIb			
HDAC6	Citoplasma	Sobreexpresión	Mama, AML, CTLT
HDAC10	Citoplasma	Sobreexpresión	Carcinoma hepatocelular
Clase III			
HDAC11	Núcleo/citoplasma	Sobreexpresión	Mama

el inhibidor de quinasa dependiente de ciclina) en líneas celulares de cáncer.²²⁻²⁴ Su producto bloquea la formación de dímeros a partir de ciclinas y quinasas dependientes de ciclina (CDK) y detiene el ciclo celular. Además, es capaz de inhibir la diferenciación celular.^{23,24} La expresión del gen p21 está controlada por la proteína p53 que interactúa con el promotor de este gen, compitiendo con HDAC1, y esto disminuye la expresión de p21.²⁵ Posterior al tratamiento con inhibidores de las HDAC, la enzima HDAC1 se libera del Sp1 (un factor de transcripción específico del promotor), lo que aumenta la expresión de p21 (freno del ciclo celular). La inhibición de HDAC, a nivel del citoplasma, aumenta la acetilación de la proteína p53, lo que resulta en un incremento de su vida media, mejorando así la interacción con el promotor p21.^{26,27} Por último, los niveles de p21 se incrementan, mediando así la detención del ciclo celular y la apoptosis.^{23,28,29}

Los inhibidores de HDAC también pueden detener la expresión de genes que codifican ciclina D y ciclina A dando como resultado la ausencia de actividades de las correspondientes quinasas, CDK2 y CDK4.^{24,30}

INDUCCIÓN DE LA APOPTOSIS POR AGENTES EPIGENÉTICOS

Los inhibidores de las HDAC inducen la apoptosis en las células cancerígenas por medio de la regulación de genes proapoptóticos y antiapoptóticos.³¹⁻³³ Los mecanismos por los que diferentes inhibidores de HDAC inducen la apoptosis incluyen la activación de vías apoptóticas tanto extrínsecas como intrínsecas. La activación de la vía apoptótica de tipo extrínseco por los iHDAC se demostró en experimentos *in vitro*. Se ha observado que estos compuestos influyen en los receptores de muerte TRAIL (ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF), DR5 (receptor de muerte 5), Fas

(superfamilia 6 de TNF), TNF (factor de necrosis tumoral) y ligandos relacionados con el TNF Fas-L.^{32,34-36} Los inhibidores de HDAC también activan la vía apoptótica intrínseca, regulan la transcripción de genes proapoptóticos como Bid (proteína agonista de muerte del dominio que interactúa con BH3), Bad (agonista de la proteína de muerte celular asociado a Bcl-2) y Bim.^{22,33,37,38}

Además de estos efectos en la expresión génica, los inhibidores de HDAC aumentan las especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden inducir apoptosis en células leucémicas (Jurkat, ML-1, U937, HL-60, K-562, CEM-CCRF.^{37,39,40} El AVP induce la apoptosis de manera más eficaz en condiciones hipóxicas y supera la resistencia inducida por hipoxia al cisplatino (CDDP) en las células derivadas de neuroblastoma de alto riesgo UKF-NB-3 y sublínea resistente a CDDP, probablemente por inducción de la degradación de HIF-1 α .^{41,42}

LA INDUCCIÓN DE LA MUERTE POR AUTOFAGIA

La acetilación de muchas proteínas relacionadas con la autofagia, como el producto de los genes relacionados con la autofagia (ATG), está regulada por el equilibrio entre HAT y HDAC.⁴³ La autofagia también puede regularse mediante la acetilación de factores de transcripción como FOXO.⁴⁴ Diferentes HDAC influyen en la actividad autofágica mediante mecanismos diversos. La HDAC6 induce la autofagia cuando se deteriora el sistema de ubiquitina-proteasoma (UPS). La inhibición o eliminación de HDAC1 en células HeLa promueve la formación de vacuolas autofágicas.⁴⁵ La sirtuina SIRT1 forma un complejo con componentes de la maquinaria de autofagia (Atg5, -7 y -8) y estimula la muerte por este mecanismo.⁴⁶

EL ÁCIDO VALPROICO Y CAPACIDAD PARA MODIFICAR LOS MECANISMOS EPIGENÉTICOS

Desde 1985 se descubrió la capacidad del AVP para inhibir la proliferación celular en el neuroblastoma murino y en células de glioma; también se ha encontrado que la exposición continua a AVP induce la diferenciación de

varias líneas celulares y genera apoptosis. En el año 2001, un grupo alemán descubrió que el AVP, un fármaco utilizado en el control de la epilepsia, tiene actividad como iHDAC.⁴⁷ El AVP se considera un fármaco inhibidor de las HDACs que causa hiperacetilación de las colas N-terminales de las histonas H3 y H4 *in vitro* e *in vivo*.⁴⁷ Se ha clasificado a este fármaco como un inhibidor selectivo de las HDACs clase I.^{16,19,48}

AVP COMO POSIBLE AGENTE INHIBIDOR DE LA HDAC8, ESTUDIOS DE DOCKING

Se desconoce el mecanismo por el cual el AVP inhibe las HDACs; sin embargo, en un estudio *in silico*, en el que se utilizaron 14 estructuras halladas en el *Protein Data Bank* que pertenecen a la HDAC8, una isoforma clase I y utilizando al AVP como ligando, se encontró que hay dos sitios de unión: el sitio catalítico (CS) y el canal hidrofóbico del sitio activo (HASC). El grupo carboxilo del AVP interactúa con el CS, formando puentes de hidrógeno con residuos específicos (H142-143 y Y306) e interacciones electrostáticas con el átomo de Zn⁺. Por otro lado, el HASC es un canal hidrofóbico donde se piensa que se libera el acetato después de la reacción. Los resultados de las simulaciones por acoplamiento molecular muestran que el AVP tiene mayor afinidad por el HASC, esto sugiere que este canal es el sitio de unión del AVP, lo que hace suponer que existe un mecanismo donde esta interacción del AVP con el HASC bloquea la liberación del acetato e inhibe la actividad catalítica de la HDAC. Este análisis *in silico* es muy importante, ya que el CS ha sido el blanco principal para el diseño de ligandos, pero como existen pocas diferencias estructurales entre todos los CS de las HDACs, la inhibición resultante no es específica como es el caso del SAHA.⁴⁹

LOS iHDACs APROBADOS PARA TERAPIA EN HUMANOS

En el año 2006, la Administración Federal de Drogas de Estados Unidos (FDA) autorizó el uso de la suberolinida de ácido hidroxámico o SAHA como el primer fármaco inhibidor de

las HDACs para tratar pacientes con linfoma cutáneo de células T (CTCL) que remiten o que no responden al tratamiento.⁵⁰ También se han observado buenos resultados en linfoma folicular y en el de zona marginal.⁵¹ Sin embargo, en estudios clínicos fase II con suberolinida de ácido hidroxámico (SAHA) para el tratamiento de tumores de cabeza y cuello es tolerada por los pacientes, pero las respuestas a esta terapia no son significativas.⁵² En 2009, la FDA aprobó el uso de la romidepsina, un péptido cíclico, para el tratamiento del CTCL y recientemente se aprobó para el tratamiento de pacientes diagnosticados con linfoma de células T periféricas (PTCL).¹⁴

APLICACIONES DEL ÁCIDO VALPROICO EN EL CÁNCER HUMANO

Se sabe que el AVP es capaz de hacer a las células de cáncer más sensibles a la quimioterapia y radioterapia. Este fármaco se ha usado en la terapia del cáncer humano como monoterapia o combinado con agentes desmetilantes, quimioterapia y moduladores inmunitarios.⁵³ En un estudio clínico de fase II se observó que utilizado como monoterapia y aplicado en carcinoma neuroendocrino induce la expresión de la proteína Notch 1, que es un supresor de tumores. En el estudio participaron ocho pacientes, uno respondió de manera parcial y cinco evolucionaron a una patología estable.⁵⁴ En estudios realizados *in vitro* en células derivadas de neoplasias mieloides mostraron un efecto de inducción de apoptosis y diferenciación de las células leucémicas, lo que ha estimulado el uso del AVP como monoterapia o combinado en la leucemia mieloide aguda (AML) y en el síndrome mielodisplásico (MDS). En otro estudio clínico controlado de fase II en el cual participaron 75 individuos tratados con el AVP en combinación con el ácido *all-trans* retinoico se reportó que 18 pacientes (24%) tuvieron respuestas consideradas adecuadas. En otros trabajos se usó la 5-azacitidina más el AVP, resultando en una respuesta superior a la terapia convencional en estudios fases I, II y III en pacientes mayores afectados con AML y MDS.^{55,56} En otro trabajo clínico fase II en el cual se utilizó el AVP asociado al ácido *all-trans* retinoico y la 5-azacitidina que se aplicaron a personas con

AML y con MDS, se obtuvo respuesta en 23% de los pacientes y una supervivencia de 12.4 meses.⁵⁷ Se han hecho combinaciones entre agentes que dañan el ADN con el valproico, un ejemplo de esto es el trabajo en el que se asoció con la epirubicina (inhibidor de las enzimas topoisomerasas tipo II) dando respuesta en nueve de los 44 pacientes.⁵⁸ En un estudio fase I-II se combinó al AVP con 5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida en un grupo de 15 mujeres con cáncer de mama; en 64% de éstas se observó una toxicidad aceptable.⁵³ En otra publicación clínica de estudios fase I/II de pacientes con melanoma metastásico se utilizó AVP en combinación con la karenitecina, un inhibidor de la topoisomerasa I; el resultado fue estabilización de la enfermedad en 47%.⁵⁹ En un trabajo de tipo aleatorizado, fase III con 36 pacientes afectados de cáncer cervicouterino, la asociación entre hidralazina, AVP, cisplatino y topotecán generó mejoría en la supervivencia.⁶⁰ Otro trabajo *in vitro* demostró que el AVP aumenta la acetilación de la histona H3. En un análisis retrospectivo de una cohorte de 439,628 adultos mayores tratados con AVP por diferentes padecimientos neurológicos (trastorno bipolar, migraña, epilepsia) se observó menor frecuencia de carcinoma de cabeza y cuello relacionado con el tabaquismo en 26,911 individuos que utilizaron el AVP crónicamente.⁶¹

En México, el grupo de Dueñas-González está realizando estudios clínicos en fase III, utilizando el AVP como iHDAC en la terapia contra el cáncer cervical, al asociar este medicamento a la hidralazina, un fármaco antihipertensivo con propiedades desmetilantes (TRANSKRIPT®).⁶²

EL AVP HA SERVIDO DE BASE PARA LA CREACIÓN DE MOLÉCULAS ANTICÁNCER

El grupo del doctor José Correa-Basurto se ha enfocado al diseño, modelado molecular, síntesis y análisis biológicos de profármacos derivados del AVP. Recientemente se han sintetizado moléculas que acoplan al AVP con diferentes aminoácidos como la prolina y el glutámico que en ensayos de la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa y sarcoma disminuyen la viabilidad de las mismas.⁶³⁻⁶⁵

CONCLUSIONES

En la actualidad se conoce que las células madre del cáncer humano y el microambiente tumoral son en buena proporción los que controlan el desarrollo y resistencia de las neoplasias. Con la idea de eliminar estas células malignas se han hecho esfuerzos por aislar a esta población de células madre del cáncer por medio de marcadores de membrana, lo que sólo se ha logrado de manera adecuada en células leucémicas. En el caso de tumores sólidos, hasta el momento no se ha obtenido una población pura de células madre del cáncer para eliminarlas por medio de anticuerpos específicos o drogas selectivas. El hecho de utilizar fármacos inhibidores de las HDACs nos abre la posibilidad de que estas células madre inmaduras avancen en los estadios de maduración y diferenciación, expresen genes de marcadores de superficie o proteínas susceptibles de ser un blanco específico para las drogas y anticuerpos monoclonales terapéuticos.

El concepto de eliminar totalmente las células en el individuo se ha modificado en las últimas décadas. Por desgracia la quimioterapia y radioterapia son las únicas medidas terapéuticas que han mostrado resultados para algunos tipos de cáncer. Pero, como ya se ha mencionado, con un alto costo para el organismo humano por la toxicidad, lesiones oxidativas y muerte celular que se genera en los tejidos sanos. La terapia biológica, hormonal y de inhibidores de quinasas ha cambiado un poco ese concepto para dar paso al control adyuvante crónico de procesos malignos combinados con los procedimientos tradicionales quirúrgicos y de otro tipo. Los medicamentos epigenéticos como el ácido valproico nos ofrecen la posibilidad de revertir algunas características malignas de las células de cáncer, con la esperanza de que algún día estas células malignas sean el blanco de fármacos de la quimioterapia tradicional o de la terapia biológica, utilizados en dosis pequeñas, mínimamente tóxicas y a bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

- Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation*. 2000; 101 (10): 1206-1218.
- Abeles AM, Pillinger MH. Statins as antiinflammatory and immunomodulatory agents: a future in rheumatologic therapy? *Arthritis Rheum*. 2006; 54 (2): 393-407.
- Löscher W. Basic pharmacology of valproate. A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*. 2002; 16 (10): 669-694.
- Frazer LA, Foraker KC. Use of intravenous valproic acid for acute migraine. *Ann Pharmacother*. 2008; 42 (3): 403-407.
- Rosenberg G. The mechanisms of action of valproate in neuropsychiatric disorders: can we see the forest for the trees? *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64 (16): 2090-2103.
- Luna-Palencia GR, Correa-Basurto J, Vásquez-Moctezuma I. El ácido valproico como agente sensibilizador al tratamiento anticáncer. *Gac Med Mex*. 2018; 155 (4): 417-422.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011; 144 (5): 646-674.
- Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*. 2012; 150 (1): 12-27.
- Henikoff S, Gready JM. Epigenetics, cellular memory and gene regulation. *Curr Biol*. 2016; 26 (14): R644-R648.
- Tessarz P, Kouzarides T. Histone core modifications regulating nucleosome structure and dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2014; 15 (11): 703-708.
- Mersfelder EL, Parthun MR. The tale beyond the tail: histone core domain modifications and the regulation of chromatin structure. *Nucleic Acids Res*. 2006; 34 (9): 2653-2662.
- Seto E, Yoshida M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014; 6 (4): a018713.
- Choudhary C, Kumar C, Gnad F, Nielsen ML, Rehman M, Walther TC et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science* 2009; 325 (5942): 834-840.
- Robey RW, Chakraborty AR, Basseville A, Luchenko V, Bahr J, Zhan Z et al. Histone deacetylase inhibitors: emerging mechanisms of resistance. *Mol Pharm*. 2011; 8 (6): 2021-2031.
- Delcuve GP, Khan DH, Davie JR. Roles of histone deacetylases in epigenetic regulation: emerging paradigms from studies with inhibitors. *Clin Epigenetics*. 2012; 4 (1): 5.
- Sanaei M, Kavooosi F. Histone deacetylases and histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action in various cancers. *Adv Biomed Res*. 2019; 8: 63.
- De Ruijter AJM, Van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, Van Kuilenburg AB. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J*. 2003; 370 (Pt 3): 737-749.
- Dejligbjerg M, Grauslund M, Litman T, Collins L, Qian X, Jeffers M et al. Differential effects of class I isoform histone deacetylase depletion and enzymatic inhibition by belinostat or valproic acid in HeLa cells. *Mol Cancer*. 2008; 7: 70.
- Witt O, Deubzer HE, Lodrini M, Milde T, Oehme I. Targeting histone deacetylases in neuroblastoma. *Curr Pharm Des*. 2009; 15 (4): 436-447.
- Fantin VR, Richon VM. Mechanisms of resistance to histone deacetylase inhibitors and their therapeutic implications. *Clin Cancer Res*. 2007; 13 (24): 7237-7242.

21. Mercurio C, Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylases and epigenetic therapies of hematological malignancies. *Pharmacol Res.* 2010; 62 (1): 18-34.
22. Vrana JA, Decker RH, Johnson CR, Wang Z, Jarvis WD, Richon VM et al. Induction of apoptosis in U937 human leukemia cells by suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) proceeds through pathways that are regulated by Bcl-2/Bcl-XL, c-Jun, and p21CIP1, but independent of p53. *Oncogene* 1999; 18 (50): 7016-7025.
23. Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97 (18): 10014-10019.
24. Sandor V, Senderowicz A, Mertins S, Sackett D, Sausville E, Blagosklonny MV et al. P21-dependent G1 arrest with downregulation of cyclin D1 and upregulation of cyclin E by the histone deacetylase inhibitor FR901228. *Br J Cancer.* 2000; 83 (6): 817-825.
25. Ocker M, Schneider-Stock R. Histone deacetylase inhibitors: Signalling towards p21cip1/waf1. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39 (7-8): 1367-1374.
26. Gius D, Cui H, Bradbury CM, Cook J, Smart DD, Zhao S et al. Distinct effects on gene expression of chemical and genetic manipulation of the cancer epigenome revealed by a multimodality approach. *Cancer Cell* 2004; 6 (4): 361-371.
27. Zhao Y, Lu S, Wu L, Chai G, Wang H, Chen Y et al. Acetylation of p53 at lysine 373/382 by the histone deacetylase inhibitor depsipeptide induces expression of p21(Waf1/Cip1). *Mol Cell Biol.* 2006; 26 (7): 2782-2790.
28. Mahyar-Roemer M, Roemer K. p21 Waf1/Cip1 can protect human colon carcinoma cells against p53-dependent and p53-independent apoptosis induced by natural chemopreventive and therapeutic agents. *Oncogene.* 2001; 20 (26): 3387-3398.
29. Suzuki T, Yokozaki, H, Kuniyasu H, Hayashi K, Naka K, Ono S et al. Effect of trichostatin A on cell growth and expression of cell cycle- and apoptosis-related molecules in human gastric and oral carcinoma cell lines. *Int J Cancer.* 2000; 88 (6): 992-997.
30. Qiu L, Burgess A, Fairlie DP, Leonard H, Parsons PG, Gabrielli BG. Histone deacetylase inhibitors trigger a G2 checkpoint in normal cells that is defective in tumor cells. *Mol Biol Cell.* 2000; 11 (6): 2069-2083.
31. Kim HJ, Bae SC. Histone deacetylase inhibitors: Molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am J Transl Res.* 2011; 3 (2): 166-179.
32. 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.
33. Miller CP, Singh MM, Rivera-Del Valle N, Manton CA, Chandra J. Therapeutic strategies to enhance the anticancer efficacy of histone deacetylase inhibitors. *J Biomed. Biotechnol.* 2011; 2011: 514261.
34. Fulda S. Modulation of TRAIL-induced apoptosis by HDAC inhibitors. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8 (2): 132-140.
35. Kwon SH, Ahn SH, Kim YK, Bae GU, Yoon JW, Hong S et al. Apicidin, a Histone Deacetylase Inhibitor, induces apoptosis and Fas/Fas ligand expression in human acute promyelocytic leukemia cells. *J Biol Chem.* 2002; 277 (3): 2073-2080.
36. Nebbioso A, Clarke N, Voltz E, Germain E, Ambrosino C, Bontempo P et al. Tumor-selective action of HDAC inhibitors involves TRAIL induction in acute myeloid leukemia cells. *Nat Med.* 2005; 11 (1): 77-84.
37. Ruefli AA, Ausserlechner MJ, Bernhard D, Sutton VR, Tainton KM, Kofler R et al. The histone deacetylase inhibitor and chemotherapeutic agent suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) induces a cell-death pathway characterized by cleavage of Bid and production of reactive oxygen species. *Proc Natl Acad. Sci USA.* 2001; 98 (19): 10833-10838.
38. Zhao Y, Tan J, Zhuang L, Jiang X, Liu, ET, Yu Q. Inhibitors of histone deacetylases target the Rb-E2F1 pathway for apoptosis induction through activation of proapoptotic protein. *Bim Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102 (44): 16090-16095.
39. Gao S, Mobley A, Miller C, Boklan, J, Chandra J. Potentiation of reactive oxygen species is a marker for synergistic cytotoxicity of MS-275 and 5-azacytidine in leukemic cells. *Leuk Res.* 2008; 32 (5): 771-780.
40. Rosato RR, Almenara JA, Grant S. The histone deacetylase inhibitor MS-275 promotes differentiation or apoptosis in human leukemia cells through a process regulated by generation of reactive oxygen species and induction of p21CIP1/WAF11. *Cancer Res.* 2003; 63 (13): 3637-3645.
41. Cipro Š, Hřebačková J, Hrabčta J, Poljaková J, Eck-schlager T. Valproic acid overcomes hypoxia-induced resistance to apoptosis. *Oncol Rep.* 2012; 27 (4): 1219-1226.
42. Jeong JW, Bae MK, Ahn MY, Kim SH, Sohn TK, Bae MH et al. Regulation and destabilization of HIF-1 α by ARD1-mediated acetylation. *Cell.* 2002; 111 (5): 709-720.
43. Zhang J, Zhong Q. Histone deacetylase inhibitors and cell death. *Cell Mol Life Sci.* 2014; 71 (20): 3885-3901.
44. Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, Chua KF, Greer PL, Lin Y et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 303 (5666): 2011-2015.
45. Oh M, Choi IK, Kwon HJ. Inhibition of histone deacetylase1 induces autophagy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 369 (4): 1179-1183.
46. Lee IH, Cao L, Mostoslavsky R, Lombard DB, Liu J, Bruns NE et al. A role for the NAD-dependent deacetylase Sirt1 in the regulation of autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105 (9): 3374-3379.
47. Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, Krämer OH, Schimpf A, Giavara S, Sleeman JP et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J.* 2001; 20 (24): 6969-6978.
48. Khan N, Jeffers M, Kumar S, Hackett C, Boldog F, Khramtsov N et al. Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochem J.* 2008; 409: 581-589.
49. Bermúdez-Lugo JA, Perez-Gonzalez O, Rosales-Hernández MC, Ilizaliturri-Flores I, Trujillo-Ferrara J, Correa-Basurto J. Exploration of the valproic acid binding site on histone deacetylase 8 using docking and molecular dynamic simulations. *J Mol Model.* 2012; 18: 2301-2310.

50. Olsen EA, Kim YH, Kuzel TM, Pacheco TR, Foss FM, Parker S et al. Phase IIb multicenter trial of vorinostat in patients with persistent, progressive, or treatment refractory cutaneous T-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 3109-3115.
51. Kirschbaum MH. Histone deacetylase inhibitors and Hodgkin's lymphoma. *Lancet Oncol.* 2011; 12(13): 1178-1179.
52. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. 2009; 27 (32): 5459-5468.
53. Münster P, Marchion D, Bicaku E, Lacevic M, Kim J, Centeno B et al. Clinical and biological effects of valproic acid as a histone deacetylase inhibitor on tumor and surrogate tissues: phase I/II trial of valproic acid and epirubicin/FEC. *Clin Cancer Res.* 2009; 15 (7): 2488-2496.
54. Mohammed TA, Holen KD, Jaskula-Sztul R, Mulkerin DR, Lubner SJ, Schelman WR et al. A pilot phase II study of valproic acid for treatment of low-grade neuroendocrine carcinoma. *Oncologist.* 2011; 16 (6): 835-843.
55. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009; 10 (3): 223-232.
56. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U et al. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol.* 2010; 28 (4): 562-569.
57. Raffoux E, Cras A, Recher C, Boëlle PY, De Labarthe A, Turlure P et al. Phase 2 clinical trial of 5-azacitidine, valproic acid, and all-trans retinoic acid in patients with high-risk acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Oncotarget.* 2010; 1 (1): 34-42.
58. Münster P, Marchion D, Bicaku E, Schmitt M, Lee JH, DeConti R et al. Phase I trial of histone deacetylase inhibition by valproic acid followed by the topoisomerase II inhibitor epirubicin in advanced solid tumors: a clinical and translational study. *J Clin Oncol.* 2007; 25 (15): 1979-1985.
59. Daud AI, Dawson J, DeConti RC, Bicaku E, Marchion D, Bastien S et al. Potentiation of a topoisomerase I inhibitor, karenitecin, by the histone deacetylase inhibitor valproic acid in melanoma: translational and phase I/II clinical trial. *Clin Cancer Res.* 2009; 15 (7): 2479-2487.
60. Coronel J, Cetina L, Pacheco I, Trejo-Becerril C, González-Fierro A, De la Cruz-Hernández 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 (1): S540-S546.
61. Kang H, Gillespie TW, Goodman M, Brodie SA, Brandes M, Ribeiro M et al. Long-term use of valproic acid in US veterans is associated with a reduced risk of smoking-related cases of head and neck cancer. *Cancer.* 2014; 120 (6): 1394-1400.
62. Dueñas-Gonzalez A, Coronel J, Cetina L, González-Fierro A, Chavez-Blanco A, Taja-Chayeb L. Hydralazine-valproate: a repositioned drug combination for the epigenetic therapy of cancer. 2014; 10 (10): 1433-1444.
63. Luna-Palencia GR, Martínez-Ramos F, Vásquez-Moctezuma I, Fragoso-Vázquez MJ, Mendieta-Wejebe JE, Padilla-Martínez II et al. Three amino acid derivatives of valproic acid: design, synthesis, theoretical and experimental evaluation as anticancer agents. *Anticancer Agents Med Chem.* 2014; 14 (7): 984-993.
64. Prestegui-Martel B, Bermúdez-Lugo JA, Chávez-Blanco A, Dueñas-González A, García-Sánchez JR, Pérez-González OA et al. N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide, a valproic acid aryl derivative designed in silico with improved anti-proliferative activity in HeLa, rhabdomyosarcoma and breast cancer cells. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2016; 31 (3): 140-149.
65. Luna-Palencia GR, Correa-Basurto J, Trujillo-Ferrara J, Meraz-Ríos MA, Vásquez-Moctezuma I. Epigenetic evaluation of N-(2-hydroxyphenyl)-2-propylpentanamide, a valproic acid aryl derivative with activity against hela cells. *Curr Mol Pharmacol.* 2020; 13: 1. doi.org/10.2174/1874467213666200730113828.



La **Revista Mexicana de Mastología** publica (en español o inglés) trabajos originales, artículos de revisión, reporte de casos clínicos y cartas al editor, relacionados con los aspectos clínicos, epidemiológicos y básicos de la medicina.

Los manuscritos deben prepararse de acuerdo a las indicaciones establecidas por el International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). La versión actualizada (diciembre 2019) de las recomendaciones para la preparación, presentación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas se encuentra disponible en: www.ICMJE.org

El envío del manuscrito implica que éste es un trabajo que no ha sido publicado (excepto en forma de resumen) y que no será enviado a ninguna otra revista. Los manuscritos aceptados serán propiedad de la **Revista Mexicana de Mastología** y no podrán ser publicados (ni completos, ni parcialmente) en ninguna otra parte sin consentimiento escrito del editor.

Los artículos son sometidos a revisión de árbitros experimentados. Los manuscritos originales recibidos no serán devueltos. El autor principal debe guardar una copia completa.

Los requisitos se muestran a continuación en la lista de verificación

El formato se encuentra disponible en www.medigraphic.com/pdfs/revmexmastol/ma-instr.pdf

Los autores deberán descargarla e ir marcando cada apartado una vez que éste haya sido cubierto durante la preparación del material para publicación. La lista de verificación en formato PDF deberá enviarse junto con el manuscrito, también deberá adjuntar la forma de transferencia de derechos de autor.

Los manuscritos inadecuadamente preparados o que no sean acompañados de la lista de verificación, serán rechazados sin ser sometidos a revisión.

Lista de Verificación

Preparación de manuscritos

- Envíe tres copias completas escritas a doble espacio con márgenes de 2.5 cm en papel tamaño carta (21.5 x 28 cm). El texto también deberá ser enviado en formato electrónico en disco de 3.5 pulgadas, o bien en disco zip o en disco compacto. El disco deberá tener una etiqueta en la que se especifique el nombre del archivo, el procesador empleado (word, word perfect, word de microsoft, etcétera, así como la versión empleada).
- Presente el manuscrito iniciando cada componente en una página separada: (1) Página del título, (2) Resúmenes, (3) Texto del artículo (Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones), (4) Referencias, (5) Cuadros, (6) Leyendas de las figuras.
- Anexe fotocopia a página completa de cada una de las figuras al final de cada manuscrito.
- Ponga el número de página en la esquina superior derecha de cada página.
- Cite referencias, cuadros y figuras consecutivamente y conforme aparezcan en el texto.
- Carta del Primer autor de transferencia de derechos a la **Asociación Mexicana de Mastología**. También deberá confirmar que tienen el permiso escrito de todas las personas a las que se ofrezca reconocimiento y sean mencionadas en el artículo.

1) Página de Título

- **Título.** Límite: 120 caracteres. No utilizar abreviaturas.
- **Título corto (para cornisas).** Límite: 45 caracteres.
- **Autores.** Incluya los primeros nombres de todos los autores, así como el nombre y la localización del departamento o ins-

titución donde se efectuó el trabajo (**Nota:** La autoría debe ser limitada a aquellos que contribuyeron sustancialmente al diseño del estudio, al análisis de los datos o a la redacción del manuscrito).

- **Abreviaturas.** Ponga en orden alfabético las abreviaturas no convencionales utilizadas en el manuscrito.
- **Correspondencia.** Incluya dirección, teléfono, y número de fax del autor responsable.

2) Resúmenes

- Límite: 200 palabras. Organícelo de acuerdo a: antecedentes, métodos, resultados y conclusiones. Al elaborar el resumen, no utilice abreviaturas ni cite referencias.
- En español e inglés.
- Palabras clave: en español e inglés.

3) Texto

- Describa las guías éticas seguidas para los estudios realizados en humanos o animales. Cite la aprobación de los comités institucionales de investigación y ética.
- Describa los métodos estadísticos utilizados.
- Identifique drogas y químicos utilizados por su nombre genérico.

4) Referencias

- Cite las referencias de acuerdo al orden de aparición en el texto, utilizando números arábigos entre paréntesis. Las comunicaciones personales y datos aún no publicados, cítelos directamente en el texto. No los numere ni los incluya en la lista de referencias.
- Las abreviaturas de las publicaciones deben ser las oficiales y estar de acuerdo a las utilizadas en el *Index Medicus*.

— Artículo (ponga todos los autores), ejemplo:
Lasky MD, Chousleb KA, Carmen Hernández BMC, Greenspun MM. Microcirugía endoscópica en el cuello utilizando a la rata como modelo experimental. *An Med Asoc Med Hosp ABC* 1999; 44(3): 113-116.

— Libro, ejemplo:

Sechzer JA: *The role of animals in biomedical research*. New York Academy of Sciences, 1983.

— Artículo en libro, ejemplo:

Funess JB, Costa M: *An overview of the enteric nervous system*. In: Funess JB, Costa M, eds. *The enteric nervous system*. Vol. 1. New York; Churchill Livingstone, 1987:1-5.

5) Cuadros

- A doble espacio, cada uno en hoja separada.
- Numerarlos de acuerdo a su orden de aparición en el texto.
- El número y título del cuadro aparecen arriba del mismo y las notas explicatorias abajo de éste.

6) Leyendas de las figuras

- A doble espacio y numeradas de acuerdo a su orden de aparición.
- Provea suficiente información para permitir la interpretación de la figura sin necesidad de referirse al texto.

7) Figuras

- Envíe tres juegos de fotografías de alta calidad o generadas en impresora láser, cada juego en sobre separado. Deben

tener dimensiones adecuadas para su publicación (tamaño postal). Idealmente, las fotografías deberán ser enviadas en impresión a color.

- Anexe un juego de fotocopias de las figuras con cada copia del manuscrito.

— Identifique cada figura en el apellido del primer autor, número de la figura y una flecha indicando la parte superior. Escriba estos datos sobre etiquetas autoadheribles y péguelas después en la parte posterior de cada figura.

— Las fotografías en las que aparecen pacientes identificables deberán acompañarse de permiso escrito para publicación otorgado por el paciente. De no ser posible contar con este permiso, una parte del rostro de los pacientes deberá ser tapado sobre la fotografía.

— En el caso de que las figuras estén procesadas en archivo electrónico, deberán incluirse en un disco distinto al que incluye el texto. Las imágenes deberán estar digitalizadas en formato JPG (JPEG), sin compresión y en resolución mayor o igual a 150 ppp.

Dirija todos los manuscritos a:

<http://revision.medigraphic.com/RevisionMastol/>

Dr. David Eduardo Muñoz González

Editor

Revista Mexicana de Mastología

Amsterdam 124-102, Col. Hipódromo Condesa

06170 Ciudad de México. Tel: 5211-6604

Transferencia de Derechos de Autor

Título del artículo: _____

Autor (es): _____

Los autores certifican que el artículo arriba mencionado es trabajo original y que no ha sido previamente publicado. También manifiestan que, en caso de ser aceptado para publicación en la **Revista Mexicana de Mastología**, los derechos de autor serán transferidos a la **Asociación Mexicana de Mastología**.

Nombre y firma de todos los autores

Lugar y fecha: _____
