



Enfermedades asociadas con mutaciones y cambios en la expresión de las ATPasas-Ca²⁺ del retículo sarco(endo)plásmico

Diseases associated with mutations and changes in expression of sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPases

Erika Contreras-Leal^{1,2}, Ángel Zarain-Herzberg³, Juan Santiago-García²

Recibido: 14/06/2010 - Aceptado: 22/07/2010

RESUMEN

En este artículo de revisión se describe la estructura y función de las ATPasas de Ca²⁺ del retículo sarco(endo)plásmico (SERCA, por sus siglas en inglés: Sarco(Endo)plasmic Reticulum Calcium ATPases) y se analiza el efecto de algunas mutaciones y alteraciones de su expresión en diversas patologías. Las enzimas SERCA catalizan el transporte activo de iones Ca²⁺ del citoplasma al lumen del retículo sarco(endo)plásmico, en contra de su gradiente de concentración. Estas enzimas tienen un papel importante en la regulación de los procesos celulares activados por calcio, como contracción muscular, liberación de neurotransmisores, expresión genética, apoptosis y proliferación celular, entre otros. En vertebrados superiores existen tres genes que codifican para las enzimas SERCA (SERCA1 a 3), pero la edición alterna de sus mensajeros da origen a una gran diversidad de isoformas, un proceso regulado de manera específica durante el desarrollo. La correcta expresión y actividad de estas enzimas es muy importante para el buen funcionamiento celular. Las mutaciones en el gen SERCA1 se han asociado con la enfermedad de Brody, una miopatía hereditaria; y mutaciones en el gen SERCA2, con la enfermedad de Darier, una enfermedad de la piel. También se han encontrado alteraciones en la expresión y/o actividad de las enzimas SERCA en enfermedades cardíacas y recientemente en varios tipos de cáncer. Por lo anterior, resulta importante comprender el papel que desempeñan estas enzimas en la fisiología celular para poder entender qué ocurre en procesos patológicos.

Palabras clave: calcio, enzimas SERCA, cáncer, expresión génica.

ABSTRACT

This review describes the structure and function of sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPases (SERCA), and analyzes the effects of mutations and alterations in their expression in some pathologies. SERCA enzymes catalyze the active transport of Ca²⁺ from the cytoplasm to the sarco(endo)plasmic reticulum against a concentration gradient. These enzymes play an important role in cellular processes activated by calcium, such as: muscular contraction, gene expression, apoptosis, cell proliferation, among others. In higher vertebrates, there are three genes encoding SERCA enzymes (SERCA1-3), but multiple isoforms are generated by alternative splicing of the mRNA from these genes, a tissue-specific process and regulated during development. The correct activity and expression of these enzymes is essential for cell metabolism. Mutations on SERCA1 gene have been associated with Brody's disease, a recessive myopathy; whereas mutations on SERCA2 gene have been associated with Darier's disease, a skin disorder. Alterations on expression and activity of SERCA enzymes have been also found in heart failure, and recently in several types of cancer. Therefore, it is important to understand the role of these enzymes in normal physiology of the cell, in order to understand what occurs in some pathologies.

Key words: calcium, SERCA enzymes, cancer, gene expression.

¹Doctorado en Ciencias Biomédicas.

²Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana.

³Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

Correspondencia:

Dr. Juan Santiago-García

Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana

Dr. Luis Castelazo Ayala S/N, Xalapa, Ver., CP 91190, México

jusantiago@uv.mx

Tel: 228-841-8900 ext. 13105

Fax: (228) 841-8911

INTRODUCCIÓN

El ión calcio (Ca^{2+}) es un segundo mensajero que tiene gran importancia en el metabolismo celular. En respuesta a señales extra e intracelulares se liberan iones Ca^{2+} del lumen del retículo endoplásmico al citosol y hay una entrada masiva de Ca^{2+} del espacio extracelular hacia el citoplasma. Ambos procesos son mediados por canales de Ca^{2+} , quienes transportan este catión a favor de su gradiente de concentración. El aumento en la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma de las células constituye una parte integral en la activación de diversos componentes de las vías intracelulares de señalización, tales como la calpaína o isoenzimas de la proteína cinasa C, o por los complejos Ca^{2+} -calmodulina, como las cinasas dependientes de calmodulina, calcineurina, entre otros¹. Estas vías regulan varios procesos celulares tan importantes como la contracción muscular, la actividad neuronal, la proliferación celular y la apoptosis, entre otros¹.

La concentración intracelular de Ca^{2+} en una célula en estado de reposo es aproximadamente 20-100 nM, mientras que en el espacio extracelular es más de mil veces mayor, aproximadamente de 2 mM. Por su parte, en el lumen del retículo endoplásmico es del orden de 100-500 μM , varias veces mayor que en el citoplasma^{2,3}. Estos gradientes de concentración de Ca^{2+} se mantienen por la actividad de las ATPasas de Ca^{2+} del retículo sarco(endo)plásmico (SERCA), que transportan el Ca^{2+} del citoplasma al interior de este organelo y las ATPasas de Ca^{2+} de la membrana plasmática (PMCA, por Plasma Membrane Calcium ATPases), que transportan el Ca^{2+} al exterior de la célula (Figura 1). Estas enzimas utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para transportar el Ca^{2+} en contra de su gradiente de concentración. La actividad de las enzimas SERCA contribuye a remover aproximadamente el 90% del Ca^{2+} citosólico libre, mientras que las PMCA transportan cerca del 10% del Ca^{2+} citoplásmico⁴.

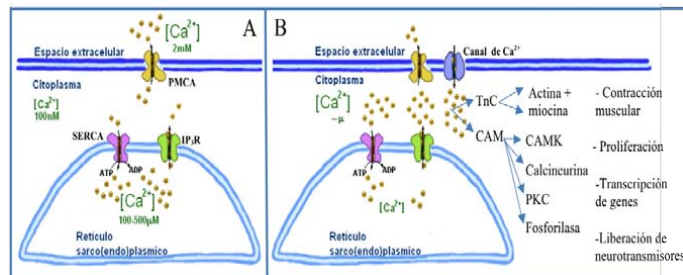


Figura 1. Mecanismos que regulan la concentración intracelular de Ca^{2+} . En el panel A se muestran las concentraciones intracelulares y extracelulares de Ca^{2+} y tres de las proteínas que participan en la homeostasis de este catión: la ATPasa- Ca^{2+} de la membrana plasmática (PMCA), la enzima SERCA y el canal de liberación de calcio activado por IP3 (IP3R). Panel B, en respuesta a señales celulares y extracelulares hay liberación de Ca^{2+} del lumen del RE y entrada masiva de Ca^{2+} del espacio extracelular. El aumento en la concentración citoplásmica de Ca^{2+} activa varias proteínas involucradas en procesos celulares importantes, como la proliferación celular, contracción muscular y expresión génica, entre otros.

Las enzimas SERCA se encargan de mantener los gradientes intracelulares de Ca^{2+} al participar activamente en la recaptura de este catión y con ello regulan la activación de las vías de señalización dependientes de Ca^{2+} . Los círculos pequeños representan los iones Ca^{2+} .

Algunas células, como musculares y las neuronas, que utilizan de forma intensa la señalización de Ca^{2+} , disponen también de un intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ o un intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}-\text{K}^+$ en su membrana plasmática, quienes transportan el Ca^{2+} al espacio extracelular. Estos intercambiadores tienen una afinidad relativamente baja por el Ca^{2+} , por lo cual sólo actúan de forma eficiente cuando los niveles de Ca^{2+} citosólico aumentan 10 veces por arriba de sus valores en estado de reposo, como ocurre después de la estimulación repentina de una célula nerviosa o muscular⁵.

La función y expresión correcta de las enzimas SERCA es importante para el buen funcionamiento celular, ya que las alteraciones en los gradientes de concentración de Ca^{2+} citoplásmico y del retículo endoplásmico (RE) pueden activar mecanismos de señalización, alterar la expresión de genes, la proliferación celular, causar toxicidad celular e inducir carcinogénesis o muerte celular⁶⁻⁹. Estas enzimas tienen una participación importante en el proceso de contracción-relajación del músculo cardíaco, razón por la cual su actividad y expresión se ha estudiado extensamente en cardiopatías, como la hipertrofia e insuficiencia cardíaca, y se ha encontrado que la expresión y la actividad de la enzima SERCA están disminuidas¹⁰⁻¹³.

Por otro lado, se ha observado que la actividad de la enzima SERCA1 está reducida en músculo esquelético de contracción rápida en pacientes con la enfermedad de Brody^{14,15}. Estas observaciones apuntaron a una posible participación del gen SERCA1 en esta enfermedad y la secuenciación de este gen en familias afectadas con la enfermedad de Brody lo confirmó^{16,17}. A su vez, el mapeo genético realizado con familias afectadas por la enfermedad de Darier demostró que mutaciones en el gen SERCA2 dan origen o se asocian con el desarrollo de esta enfermedad¹⁸.

El desarrollo de ratones transgénicos de los genes SERCA ha permitido una mejor comprensión del papel de estas enzimas en la fisiología celular, cardiopatías y otros padecimientos. De manera sorprendente se encontró que los ratones mutantes que expresan una sola copia funcional del gen SERCA2, desarrollan cáncer en las células epiteliales de la cavidad oral y del tracto digestivo, sugiriendo la participación de esta enzima en el desarrollo del cáncer¹⁹. Este hallazgo ha llevado a varios grupos de investigación a estudiar la expresión de los genes SERCA en diversos tipos de cáncer en humanos, y se ha encontrado que la expresión del gen SERCA2 está disminuida en cáncer oral, mientras que la expresión de SERCA3 está disminuida o ausente en cáncer de colon y gástrico^{20,21}. Por lo anterior, el objetivo

de esta revisión es analizar la evidencia actual sobre el papel que tienen las mutaciones y los cambios en la expresión de las enzimas SERCA en el desarrollo de diversas patologías, como las enfermedades de Darier y Brody, cardiopatías y cáncer.

Estructura y función de las enzimas SERCA

Estudios de biología molecular y cristalografía de rayos X han permitido determinar que las enzimas SERCA están formadas por una sola cadena polipeptídica de unos 1000 aminoácidos, con una masa molecular aproximada de 110 kDa^{22,23}. Estas enzimas constan de 4 dominios principales: un dominio M formado por 10 hélices- α transmembranales y 3 dominios citosólicos que conforman la cabeza globular de la enzima: el dominio de unión al nucleótido (N), el dominio de fosforilación (P), que en conjunto forman el dominio catalítico y el dominio accionador (A) (Figura 2). El dominio A y el dominio P están conectados al dominio M, que rodean el sitio de unión al ión Ca^{2+} ^{23,24}. Estudios de mutagénesis dirigida y expresión *in vitro*, demostraron que los sitios de unión al Ca^{2+} se localizan principalmente en grupos carboxilo de los residuos de ácido aspártico (Asp) y ácido glutámico (Glu) en las hélices M4, M5 y M6²⁴. Estos sitios de unión al Ca^{2+} pueden existir en un estado de alta afinidad, permitiendo el acceso de los iones Ca^{2+} del citosol, o en un estado de baja afinidad, orientado hacia el lumen del RE^{23,24}.

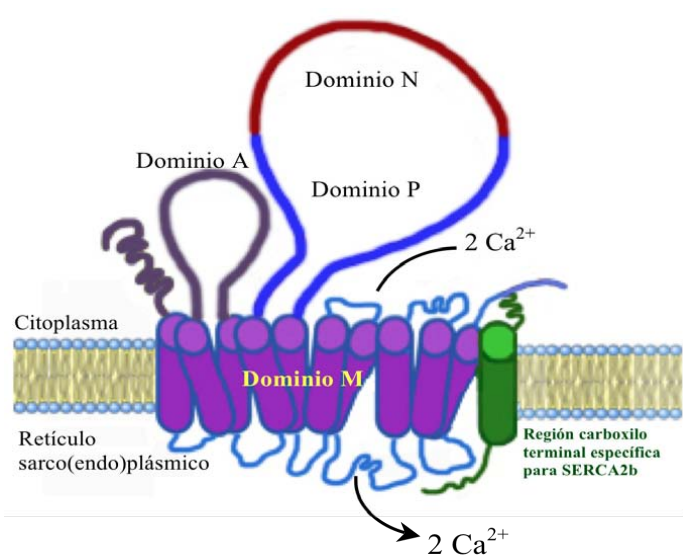


Figura 2. Estructura de las enzimas SERCA. En la cara citoplásmica se encuentran tres dominios globulares: el dominio N (unión al nucleótido), en donde se une el ATP; el dominio P (fosforilación) contiene el residuo Asp351 que sufre fosforilaciones reversibles; y el dominio A (accionador) que se supone está involucrado en la exposición del Ca^{2+} al citosol o al lumen del retículo endoplásmico. Se observan las 10 hélices transmembranales que constituyen el dominio M de las enzimas SERCA, las cuales participan en la translocación de los iones Ca^{2+} . También se muestra la hélice transmembranal número 11, exclusiva de la isoforma SERCA2b.

Las enzimas SERCA tienen grandes cambios conformacionales durante el proceso de transporte de los iones Ca^{2+} . En la primera etapa del ciclo catalítico de la enzima, dos iones Ca^{2+} se unen al dominio M en su conformación de alta afinidad por Ca^{2+} (E1); casi de inmediato el ATP se une al residuo de lisina (Lys515), localizado en el dominio N. La enzima tiene un cambio conformacional que favorece el acercamiento del ATP, del dominio N al dominio P, para fosforilar un residuo de aspártico, lo que genera un intermediario fosforilado (E1P). La energía liberada de la hidrólisis del ATP permite a la enzima cambiar su conformación, de E1P a E2P, que muestra baja afinidad por el Ca^{2+} . Con este cambio conformacional, el Ca^{2+} queda expuesto hacia el interior del lumen del retículo sarco(endo)plásmico; se produce la liberación del Ca^{2+} y la hidrólisis del intermediario fosforilado. Tras la disociación del intermediario fosforilado y liberación de P_i , la enzima SERCA vuelve a su conformación E1 para iniciar otro ciclo catalítico²⁴⁻²⁶.

Genética de las enzimas SERCA

En vertebrados superiores existen tres genes homólogos que codifican para las enzimas SERCA: SERCA1, SERCA2 y SERCA3, también referidos como ATP2A1, ATP2A2 y ATP2A3²⁷⁻²⁹. El gen SERCA1 da origen a dos isoformas por la edición alterna del ARN mensajero (ARNm); SERCA1a se expresa en músculo de contracción rápida de adulto y SERCA1b se expresa en el mismo tejido en etapa neonatal (Figura 3a). La secuencia de ambas isoformas es idéntica hasta el aminoácido 993; sin embargo, la edición alterna provoca un ligero cambio en la región carboxilo terminal. SERCA1a consta de 994 aminoácidos, mientras que SERCA1b consta de 1001 aminoácidos^{30,31}.

Por su parte, el gen SERCA2 codifica para tres isoformas, producidas por la edición alterna del ARNm, denominadas SERCA2a, SERCA2b y SERCA2c (Figura 3b). La isoforma SERCA2a se expresa predominantemente en el músculo cardíaco y, en menor cantidad, en el músculo esquelético de contracción lenta, aunque también se expresa en niveles más bajos en el músculo liso y en tejidos no musculares. La isoforma SERCA2b se expresa en la mayoría de los tipos celulares, principalmente en músculo liso y en tejidos no musculares, aunque algunos autores consideran que se expresa de forma ubicua en el organismo^{27,32-34}. La isoforma SERCA2c se expresa durante la diferenciación monocítica y en varios tipos de células no musculares³⁵. La secuencia de las tres isoformas es idéntica hasta el aminoácido 993; sin embargo, la edición alterna del mensajero provoca un ligero cambio en la región carboxilo terminal. De esta manera, SERCA2a consta de 997 aminoácidos; SERCA2b, de 1042; y SERCA2c, de 999 (Figura 3b).

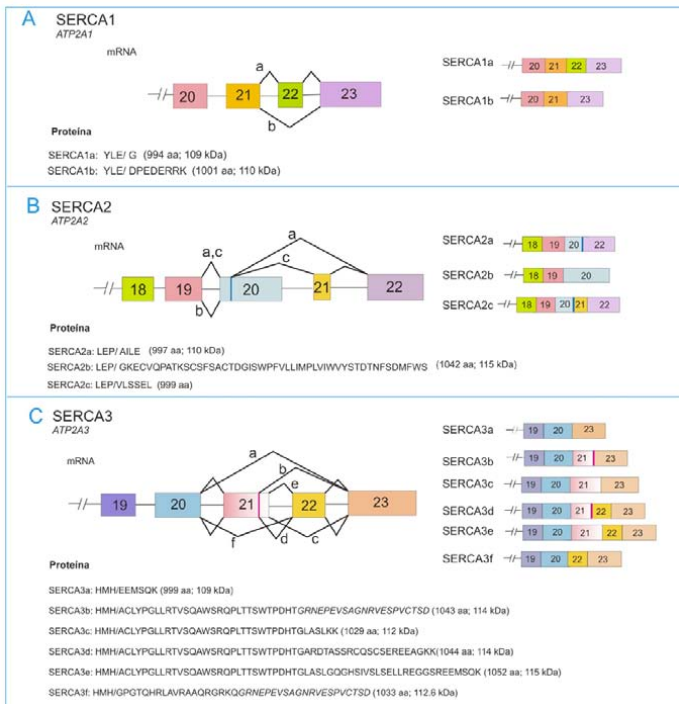


Figura 3. Edición alternativa de los mensajeros que codifican para las enzimas SERCA1, 2 y 3. Los transcritos primarios de los tres genes SERCA sufren edición alternativa, evento que genera diversas isoformas. A) La edición alternativa del ARN mensajero de SERCA1 genera dos isoformas; una que carece del exón 22 (isoforma a) y la otra que lo incluye (isoforma b). B) El ARNm de SERCA2 da origen a tres variantes, SERCA2a incluye parte del exón 20 que empalma con el exón 22; SERCA2b incluye el exón 20 completo y excluye los exones 21 y 22; SERCA2c incluye parte del exón 20 que empalma con el exón 21 y éste a su vez con el exón 22. C) El procesamiento del transcrito primario de SERCA3 es más complejo y genera seis variantes. El ARNm de SERCA3a excluye al exón 21 y 22. Los mensajeros de SERCA3b y SERCA3c insertan parcial o totalmente el exón 21, mientras que SERCA3d y SERCA3e incluyen parcial o totalmente el exón 21, e incluyen el exón 22. El ARNm de SERCAf carece del exón 21 pero incluye el exón 22. Debajo de los tres esquemas que representan la edición de los mensajeros se encuentra la secuencia de aminoácidos carboxilo terminal de las proteínas SERCA, para mostrar la diferencia que existe en esta región entre las diversas isoformas (Modificado de Wuytack y col, 2002).

La edición alternativa del mensajero del gen SERCA3 es más compleja; da origen a seis isoformas denominadas SERCA3a, 3b, 3c, 3d, 3e, 3f^{24,36,37}. Estas isoformas difieren entre sí únicamente en la región carboxilo terminal (Figura 3c). Este gen se expresa en una gran variedad de tejidos no musculares, principalmente en células endoteliales, células de origen hematopoyético, células β -del páncreas y células de Purkinje. SERCA3 casi siempre co-expresa con SERCA2b³⁸. Aunque todas las enzimas SERCA bombean Ca^{2+} del citoplasma al lumen del retículo sarco(endoplásmico), las características bioquímicas de las isoformas difieren sustancialmente³⁹. La diferencia principal radica en su afinidad y capacidad de transporte de Ca^{2+} . Al expresarlas en células COS en cultivo, la isoforma SERCA2b tiene mayor afinidad por Ca^{2+} , pero menor velocidad catalítica que SERCA2a. En el caso de las isoformas de la enzima SERCA3 todas manifiestan una afinidad

por Ca^{2+} similar, pero regulan las concentraciones citosólicas de Ca^{2+} y del RE de manera diferente; las isoformas SERCA3a, 3b, 3d y 3e tienen una mayor actividad de transporte de Ca^{2+} , en comparación con la isoforma SERCA3c⁴⁰.

Por otra parte, SERCA3 tiene una menor afinidad por Ca^{2+} ($K_{ca} = 1.2 \mu\text{M}$) que la enzima SERCA2b ($K_{ca} = 0.2 \mu\text{M}$), y tanto las enzimas SERCA3 como SERCA1 poseen una mayor velocidad catalítica que las enzimas SERCA2³⁹, además de un menor pH óptimo de actividad⁴¹. La menor afinidad de la enzima SERCA3 por el Ca^{2+} podría sugerir que únicamente se activa cuando el Ca^{2+} alcanza concentraciones micromolares en el citoplasma, por ejemplo después de una estimulación masiva o durante el pico de oscilaciones citosólicas de Ca^{2+} ⁴². La actividad de las enzimas SERCA se regula por la interacción con dos proteínas que actúan como inhibidores endógenos reversibles, fosfolamban y sarcolipina, las cuales se encuentran en la membrana del retículo endoplásmico⁴³⁻⁴⁵. Fosfolamban en su estado desfosforilado se asocia con las enzimas SERCA1a, SERCA2a y SERCA2b, inhibiéndolas. La inhibición se manifiesta por una disminución aparente de la afinidad por Ca^{2+} y en su capacidad para transportar Ca^{2+} . Mientras que la fosforilación de fosfolamban, por la proteína cinasa dependiente de AMPc (en respuesta a la estimulación de los receptores β -adrenérgicos), impide la asociación con SERCA, resultando en un incremento considerable en la actividad de la enzima^{10,46}. Fosfolamban no interacciona con la enzima SERCA3, debido a que ésta no posee una secuencia de reconocimiento de seis aminoácidos en el dominio N, que sí se encuentra en las enzimas SERCA1 y SERCA2⁴⁰. La actividad de SERCA2b también se regula por las proteínas calreticulina y calnexina, presentes en el retículo endoplásmico, que al unirse a la enzima incrementan su afinidad por Ca^{2+} y disminuyen su velocidad catalítica^{47,48}.

Recientemente se demostró que la proteína anti-apoptótica Bcl-2 puede afectar la actividad de la enzima SERCA2⁴⁹. Los datos recabados hasta la fecha sugieren que Bcl-2 ejerce un efecto anti-apoptótico al mantener la concentración de Ca^{2+} en el lumen del retículo endoplásmico por debajo del umbral de los niveles de Ca^{2+} requerido para activar las redes de señalización que conducen a la apoptosis dependiente de Ca^{2+} ⁴⁹. Aunque la forma de interacción de estas dos proteínas no es del todo clara, se sabe que Bcl-2 disminuye la actividad de SERCA2 y con ello la concentración de Ca^{2+} en el lumen del RE⁴⁹. El inhibidor más específico de todas las enzimas SERCA y que no afecta a otras bombas de Ca^{2+} , es la tapsigargina, una lactona sesquiterpénica que se extrae de las raíces de *Thapsia garganica*. Este inhibidor se une a SERCA en la conformación E2 y la inhibe de manera irreversible⁵⁰.

Enfermedades asociadas con mutaciones y cambios en la expresión de los genes SERCA

Enfermedad de Brody. Ésta es una enfermedad muscular rara que se puede transmitir de forma autosómica dominante o recesiva, descrita por primera vez por el Dr. Irwin A. Brody⁵¹. Esta miopatía congénita se caracteriza por un aumento perjudicial en el tiempo de relajación del músculo esquelético, calambres sin dolor y rigidez durante el ejercicio¹⁶. Al estudiar dos familias afectadas por la enfermedad de Brody se identificaron tres mutaciones en el gen SERCA1; una ocurre en el sitio donador del intrón 3 (cambio de GT por CT), y las otras dos dan origen a codones de paro prematuros (C592T, C2025A), lo que resulta en una proteína truncada no funcional¹⁶ (Cuadro 1). Otras tres mutaciones identificadas en seis familias codifican para codones de término prematuros y una mutación sin sentido que inactiva a la proteína¹⁷ (Cuadro 1). Las mutaciones en el gen SERCA1 únicamente se han asociado con la forma autosómica recesiva de la enfermedad¹⁶.

En condiciones normales, la contracción de las fibras musculares es inducida por la liberación de Ca²⁺ del retículo sarcoplásmico, mientras que la relajación de estas fibras ocurre por la disminución de las concentraciones de Ca²⁺ citosólico, proceso llevado a cabo principalmente por la enzima SERCA1. Debido a que las mutaciones antes mencionadas ocasionan la pérdida de la función de la enzima SERCA1, el transporte de Ca²⁺ hacia el retículo sarcoplásmico se ve afectado y con ello la relajación de las fibras musculares se vuelve más lenta¹⁵.

Cuadro 1. Enfermedades asociadas con mutaciones en los genes SERCA1 y SERCA2

Gen	Mutación	Consecuencia	Enfermedad asociada	Referencia
SERCA1	C592T C2025A Cambio de GT a CT, sitio donador intrón 3	Codones de paro prematuros, proteína truncada no funcional.	Enfermedad de Brody	[16]
SERCA2	N39D ΔP42 Q790X S920Y T357K	Afectan la actividad de la enzima, algunas son mutaciones sin sentido, deleciones, corrimiento del marco de lectura, entre otras.	Enfermedad de Darier y en algunos casos anomalías neuropsiquiátricas como esquizofrenia, epilepsia y otras.	[18, 52, 53]

Enfermedad de Darier. Ésta es una alteración autosómica dominante de la piel que provoca queratinización anormal (disqueratosis) y pérdida de adhesión entre las células epidérmicas (acantolisis)¹⁸. La enfermedad se caracteriza por la aparición de pápulas hiperqueratósicas en áreas seboreicas de la piel (tronco y cara: arriba del pecho, a los lados del cuello, en la frente, etc.) y en los flexores, en donde pueden formar, por confluencia, placas mal olientes que pueden desprenderse. Las

primeras lesiones aparecen con frecuencia durante la pubertad y los síntomas se pueden exacerbar por exposición a los rayos solares, radiación ultravioleta, calor, fricción e infecciones⁵⁴.

En pacientes con la enfermedad de Darier se han reportado más de 130 mutaciones en el gen SERCA2 distribuidas en toda la molécula; no hay evidencia de que ocurran en regiones específicas del gen^{15,18}; algunas de ellas se mencionan en el Cuadro 1. La mayoría de las mutaciones identificadas son: cambio de un amino ácido por otro en el 50% de los casos, deleciones o inserciones 8% de los casos, mutaciones sin sentido (12%) y corrimiento del marco de lectura (23%), que dan origen a codones de paro prematuro¹⁵. Dentro de las consecuencias funcionales derivadas de estas mutaciones se han reportado alteración o pérdida de la capacidad de la enzima SERCA2 para transportar el Ca²⁺ y en la homeostasis de Ca²⁺ del retículo sarco(endo)plásmico^{52,53,55}. También se encontró que algunas de estas mutaciones correlacionan con enfermedades neuropsiquiátricas, entre las que se encuentran retraso mental, esquizofrenia, trastorno bipolar y epilepsia⁵⁶ (Cuadro 1).

Enfermedades cardiacas. Diversos padecimientos o condiciones pueden afectar la función del corazón: la diabetes, la obesidad, hipertensión, isquemia, entre otros. Estas condiciones nocivas pueden propiciar mayor esfuerzo o sobrecarga cardiaca; para compensar estas demandas y aumentar el bombeo de sangre al organismo, el corazón puede sufrir modificaciones como la dilatación de las cavidades (cardiopatía dilatada), o aumento en el grosor de las paredes y tamaño del corazón (hipertrofia cardíaca). Sin embargo, con el tiempo estas cardiopatías debilitan la capacidad de bombeo del corazón y desembocan en un padecimiento más serio: la insuficiencia cardiaca, condición patológica que se caracteriza por una disminución en la capacidad de bombeo del corazón, situación que lleva a un desbalance entre el suministro y la demanda de sangre de los órganos y tejidos¹¹. Este padecimiento constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad en las sociedades contemporáneas. En la hipertrofia e insuficiencia cardiaca hay un marcado cambio en la contractilidad del miocardio; tanto la contracción como la relajación se hacen más lentas^{12,57}. Estos cambios van acompañados de alteraciones en los movimientos intracelulares de Ca²⁺; la liberación y recaptura de Ca²⁺ son más lentas^{12,58,59}.

Las enzimas SERCA desempeñan un papel clave en el control de la contracción del músculo cardiaco durante el acoplamiento del mecanismo de contracción-relajación. La contracción muscular ocurre por el aumento en las concentraciones intracelulares de Ca²⁺ en respuesta a potenciales de acción; mientras que la relajación ocurre por la rápida recaptura de este catión al RS, proceso mediado por las

enzimas SERCA. Por esta razón, diversos grupos de investigación han estudiado la actividad y expresión de la enzima SERCA2 en cardiopatías, tanto en modelos animales como en biopsias y tejido *postmortem* de humanos. Se ha encontrado que la actividad de la enzima SERCA2 está disminuida en casi todos los modelos animales de insuficiencia cardiaca, lo que resulta en disminución del transporte de Ca²⁺ hacia el lumen del RE^{10,12,13}. En paralelo, se ha encontrado que la expresión genética de esta enzima está disminuida en el miocardio en modelos animales de insuficiencia cardiaca y en muestras de pacientes con hipertrofia e insuficiencia cardiaca¹⁰⁻¹³. La reducción en la expresión y actividad de la enzima SERCA juega un papel importante en el desarrollo de esta condición.

A partir de estos hallazgos, se han desarrollado estrategias para incrementar la expresión de la enzima SERCA2 en el miocardio de animales experimentales con hipertrofia e insuficiencia cardiaca, encontrándose que al sobre-expresar SERCA2 en el miocardio de estos animales, por medio de adenovirus, hay un aumento en la actividad ATPasa-Ca²⁺, mayor liberación de Ca²⁺ del RS y disminución en el tiempo de relajación⁶⁰⁻⁶². Resultados similares se han encontrado al sobre-expresar el gen SERCA2 en cardiocitos de pacientes con insuficiencia cardiaca en cultivo⁶⁰. Estos resultados alentadores han permitido la aprobación del primer protocolo de terapia génica para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca; los pacientes recibirán copias del gen SERCA2 en el miocardio, con el fin de aumentar la expresión de esta enzima⁶².

Por otro lado, se ha investigado la presencia de mutaciones en el gen SERCA2 en pacientes con hipertrofia e insuficiencia cardiaca; hasta la fecha no se han encontrado mutaciones que afecten la función de este gen, pero algunas mutaciones en el gen regulador fosfolamban se han asociado con disminución de la actividad de SERCA2a, desarrollo de cardiomiopatías e insuficiencia cardiaca. Una de estas mutaciones (R9C), encontrada en una familia norteamericana con cardiomiopatía dilatada de tipo hereditario, favorece que fosfolamban permanezca en estado no fosforilado (unido a la enzima SERCA), afectando con ello la afinidad de SERCA2a por Ca²⁺ y disminuyendo su actividad⁶³. Al sobre-expresar la proteína fosfolamban de humano con esta mutación en ratones transgénicos, se observó disminución en la fosforilación de fosfolamban, cardiomiopatía dilatada y muerte a edad temprana⁵⁹. Otra mutación en el gen de fosfolamban genera un codón de paro prematuro en el aminoácido 39 (L39stop), lo que resulta en la formación de una proteína truncada no funcional. Los individuos homocigotos para esta mutación desarrollaron cardiomiopatía dilatada severa y requirieron de un trasplante a edad temprana⁶⁴, sugiriendo que es fundamental la regulación de la actividad de SERCA2a por fosfolamban para mantener las

concentraciones de calcio normales en el corazón de humano.

Las enzimas SERCA y cáncer. En años recientes se ha sugerido que la alteración de la homeostasis de Ca²⁺ pudiera estar involucrada en la proliferación celular anormal y la adquisición del fenotipo tumoral. La primera evidencia en este sentido se encontró en ratones transgénicos con una mutación nula en una de las copias del gen SERCA2, por lo tanto sólo expresan una copia funcional del gen. Estos ratones desarrollan tumores espontáneos en las células escamosas de la piel, tracto digestivo y cavidad oral^{19,65}.

Con esta evidencia se iniciaron estudios en muestras de cáncer y células tumorales de humano en cultivo, encontrándose que la expresión del gen SERCA3 está considerablemente reducida o ausente en cáncer de colon y en cáncer gástrico, en comparación con las células de epitelio normal de colon y estómago, que expresan esta enzima en niveles altos^{21,66} (Cuadro 2). La disminución en los niveles de expresión del gen SERCA3 en células de cáncer de colon sugiere que la expresión anómala de esta enzima es un evento temprano durante el desarrollo del tumor. Además, sugiere que el grado de pérdida de expresión del gen SERCA3 correlaciona con el grado de pérdida de la diferenciación celular de tumores benignos y malignos²¹. En condiciones normales, la expresión de SERCA3 aumenta a medida que las células de las criptas del colon maduran⁶⁶. A partir de estas observaciones se sugiere que la expresión de SERCA3 se puede comportar como un marcador de diferenciación en varios tipos celulares, incluyendo las células cancerosas⁶⁶.

Cuadro 2. Cambios en la expresión de las enzimas SERCA2 y SERCA3 en tumores y líneas celulares de cáncer de humano

Enzima	Tipo de cáncer	Cambio			Referencia
		RNAm	Proteína	Actividad	
SERCA2	Cáncer oral: carcinoma de las células escamosas, muestras de tejido de pacientes y líneas celulares.	↓	↓	ND	[20]
	Cáncer de colon y de pulmón: muestras de tejido de pacientes.	↓	ND	ND	[67]
	Cáncer colorectal: muestras de tejido de pacientes.	↑	ND	ND	[68]
SERCA3	Cáncer de colon: muestras de tejido de pacientes y líneas celulares.	↓	↓	ND	[21,66]

*ND no determinada, ↑↓ aumento y disminución de la expresión de la enzima, respectivamente.

En un estudio realizado por Endo y colaboradores (2004) se analizó la expresión del gen SERCA2 en células de cáncer oral en humanos (OSCCs, por oral squamous cell carcinoma), así como en líneas celulares derivadas de OSCC y células normales del epitelio oral²⁰. Encontraron que la expresión del gen SERCA2

disminuye o está ausente en 42% de las muestras de OSCCs y en las líneas celulares derivadas de OSCC, contrario a lo observado en células normales del epitelio oral (Cuadro 2). Esta alteración no se debió a mutaciones en la región codificante del gen SERCA2, sino a cambios en la metilación de su sitio promotor. La metilación aberrante del promotor fue responsable de suprimir la expresión del gen SERCA2 en la tercera parte de los casos de OSCC analizados²⁰. La expresión de este gen se restauró al tratar las líneas celulares derivadas de OSCC con un agente desmetilante del ADN (5-aza-2-deoxidina)²⁰. Estos datos sugieren que la metilación de los promotores tiene una influencia importante en la expresión del gen SERCA2 en células de cáncer oral en humanos, pero no es el único mecanismo implicado en la represión de la expresión génica.

La metilación del ADN es un mecanismo epigenético que regula la expresión génica. En los humanos y otros mamíferos la metilación corre a cargo de una ADN metiltransferasa (o metilasa); la reacción opuesta se dice que la realiza la enzima demetilasa; no obstante, aún no se ha descubierto. Esta modificación se lleva a cabo en citosinas que preceden a una guanina en los dinucleótidos CpG, cuando están agrupadas en las llamadas islas CpG⁶⁹, algunas de las cuales se encuentran en las regiones promotoras de varios genes. La metilación de dichas secuencias se asocia con la represión de la expresión génica^{70,71}.

Otro mecanismo de regulación epigenética que puede afectar la expresión de los genes SERCA2 y SERCA3 es la acetilación de las histonas. La modificación de las histonas por acetilación se lleva a cabo por las enzimas acetiltransferasas de histonas (HAT) o acetilasas, y está asociada con la activación de la expresión de un gen⁷²⁻⁷⁴. El proceso inverso lo llevan a cabo las desacetilasas de histonas (HDACs) y está asociado con el silenciamiento de genes. Por lo tanto, la inhibición de las desacetilasas de histonas se asocia con activación de la transcripción de varios genes. Al tratar líneas celulares derivadas de cáncer gástrico con butirato de sodio, un inhibidor de desacetilasas de histonas, se encontró que la expresión del gen SERCA3, que antes del tratamiento estaba disminuida o ausente, mostró un marcado incremento⁶⁶.

Con base en la información recién descrita, se ha sugerido que las enzimas SERCA podrían servir como blanco terapéutico y SERCA3 podría utilizarse como marcador para el estudio de fenotipos de cáncer de colon y gástrico. Se propone también, que la sobre-expresión de SERCA3 en cáncer de colon pudiera mantener los niveles de Ca²⁺ del retículo endoplásmico normales y con ello tener un valor terapéutico⁷⁵. Una estrategia diferente a la anterior que se planteó para el tratamiento del cáncer de próstata consistió en inhibir específicamente a las enzimas SERCA en células cancerosas, para lo cual se empleó la taspigargina, que se acopló a un péptido para producir un fármaco inactivo que solamente se activaría en presencia de

proteasas específicas de cáncer de próstata, como el antígeno prostático específico. Con este estudio se demostró que la taspigargina es capaz de inducir apoptosis específicamente en células de cáncer de próstata⁷⁶. Sin embargo, también se ha demostrado que la administración crónica de taspigargina puede promover la proliferación celular y la formación de tumores *in vivo* e *in vitro*^{77,78}.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Las enzimas SERCA desempeñan un papel fundamental en la fisiología celular al participar en la homeostasis del calcio, un catión que regula diversos procesos celulares. Las mutaciones o modificaciones en los genes que codifican para las enzimas SERCA resultan en cambios en su expresión y/o actividad, que pueden favorecer el desarrollo de patologías como las cardiopatías, el cáncer, la enfermedad de Darier y la enfermedad de Brody, pero aún faltan estudios para esclarecer en mayor detalle los mecanismos involucrados en el desarrollo de estas patologías. Los avances en biología molecular y el uso de ratones transgénicos con mutaciones en los genes SERCA han permitido una mejor comprensión de la función de estas enzimas y de su participación en procesos malignos.

En el futuro se podrían diseñar terapias génicas para expresar copias normales de los genes SERCA y con ello tratar de corregir los defectos que ocasionan las mutaciones en estos genes. Para el caso de cardiopatías la estrategia consiste en sobre-expresar el gen SERCA2 en el miocardio afectado, o inhibir la expresión de su proteína reguladora fosfolamban, con la finalidad de buscar mayor actividad de la enzima y una mejora en la función del músculo cardíaco. Por otro lado, se ha sugerido el uso de ácidos grasos de cadena corta para activar la expresión de las enzimas SERCA en condiciones de cáncer; sin embargo, éste es un mecanismo general que activa la expresión de diversos genes, por lo tanto será necesario desarrollar estrategias selectivas para activar la expresión de estas enzimas en las células tumorales.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a E. Contreras (223272) para estudios de doctorado en Ciencias Biomédicas y a SEP-PROMEP por el apoyo a JSG (PTC-270).

BIBLIOGRAFÍA

1. Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 11-21.
2. Carafoli E. Intracellular calcium homeostasis. *Annu Rev Biochem* 1987; 56: 395-433.

3. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 517-29.
4. MacLennan DH, Brandl CJ, Korczak B, Green NM. Amino-acid sequence of a Ca²⁺ + Mg²⁺-dependent ATPase from rabbit muscle sarcoplasmic reticulum, deduced from its complementary DNA sequence. *Nature* 1985; 316: 696-700.
5. Hilgemann DW, Yaradanakul A, Wang Y, Fuster D. Molecular control of cardiac sodium homeostasis in health and disease. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17: S47-S56.
6. Papp B, Brouland JP, Gélébart P, Kovacs T, Chomienne C. Endoplasmic reticulum calcium transport ATPase expression during differentiation of colon cancer and leukaemia cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 1223-36.
7. McConkey DJ, Orrenius S. Signal transduction pathways in apoptosis. *Stem Cells* 1996; 14: 619-31.
8. Trump BF, Berezinski IK. Calcium-mediated cell injury and cell death. *FASEB J* 1995; 9: 219-28.
9. Legrand G, y cols. Ca²⁺ pools and cell growth. Evidence for Sarcoendoplasmic Ca²⁺ -ATPases 2b involvement in human prostate cancer cell growth control. *J Biol Chem* 2001; 276: 47608-14.
10. Arai M, Matsui H, Periasamy M. Sarcoplasmic reticulum gene expression in cardiac hypertrophy and heart failure. *Circ res* 1994; 74: 555-64.
11. Mittmann C, Eschenhagen T, Schols H. Cellular and molecular aspects of contractile dysfunction in heart failure. *Cardiovasc Res* 1998; 39: 267-275.
12. Frank KF, Bölc B, Erdmann E, Schwinger RH. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 20-27.
13. Hasenfuss G. Alterations of calcium-regulatory proteins in heart failure. *Cardiovasc Res* 1998: 279-89.
14. Benders AA, Veerkamp JH, Oosterhof A, Jongen PJ, Bindels RJ, Smit LM et al. Ca²⁺ homeostasis in Brody's disease. A study in skeletal muscle and cultured muscle cells and the effects of dantrolene and verapamil. *J Clin Invest* 1994; 94: 741-48.
15. Hovnanian A. SERCA pumps and human disease. En: Brini M y Carafoli E, Ed. *Calcium Signaling and Disease*. New York: Springer; 2007. P. 337-61.
16. Odermatt A, Taschner PEM, Khanna VK. Mutations in the gene-encoding SERCA1, the fast-twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase, are associated with Brody disease. *Nature Genet* 1996; 14: 191-4.
17. Odermatt A y cols. The mutation of Pro789 to Leu reduces the activity of the fast-twitch skeletal muscle sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA1) and is associated with Brody disease. *Hum Genet* 2000; 106: 482-91.
18. Sakuntabhai A, Burge S, Monk S, Hovnanian H. Spectrum of novel ATP2A2 mutations in patients with Darier's disease. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1611-9.
19. Liu LH y cols. Squamous cell tumors in mice heterozygous for a null allele of Atp2a2, encoding the sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase isoform 2 Ca²⁺ pump. *J Biol Chem* 2001; 276: 26737-40.
20. Endo Y y cols. Sarcoendoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase type 2 downregulated in human oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2004; 110: 225-31.
21. Brouland JP y cols. The loss of sarco/endoplasmic reticulum calcium transport ATPase 3 expression is an early event during the multistep process of colon carcinogenesis. *American J Pathol* 2005; 167: 233-42.
22. MacLennan DH. Purification and properties of an adenosine triphosphatase from sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 1970; 245: 4508-4518.
23. Toyoshima C. How Ca²⁺-ATPase pumps ions across the sarcoplasmic reticulum membrane. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 941-6.
24. MacLennan DH, Rice WJ, Green NM. The Mechanism of Ca²⁺ Transport by sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPases. *J Biol Chem* 1997; 272: 28815-8.
25. Wuytack F, Raeymaekers L, Missiaen L. Molecular physiology of the SERCA and SPCA pumps. *Cell Calcium* 2002; 32: 279-305.
26. Lee AG, East JM. What the structure of a calcium pump tells us about its mechanism. *Biochem J* 2001; 356: 665-83.
27. Lytton J, MacLennan DH. Molecular cloning of cDNAs from human kidney coding for two alternatively spliced products of the cardiac Ca²⁺-ATPase gene. *J Biol Chem* 1988; 263: 15024-31.
28. Zhang Y y cols. Characterization of cDNA and genomic DNA encoding SERCA1, the Ca(2+)-ATPase of human fast-twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum, and its elimination as a candidate gene for Brody disease. *Genomics* 1995; 30: 415-24.
29. Dode L y cols. cDNA cloning, expression and chromosomal localization of the human sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase 3 gene. *Biochem J* 1996; 318: 689-99.
30. Brandl CJ, DeLeon S, Martin D, MacLennan DH. Adult forms of the Ca²⁺ ATPase of sarcoplasmic reticulum. Expression in developing skeletal muscle. *J Biol Chem* 1987; 262: 3768-74.
31. Korczak B y cols. Structure of the rabbit fast-twitch skeletal muscle Ca²⁺-ATPase gene. *J Biol Chem* 1988; 263: 4813-19.
32. De la Bastie D, Wisnewski C, Schwartz K, Lomprie AM. (Ca²⁺ + Mg²⁺)-dependent ATPase mRNA from smooth muscle sarcoplasmic reticulum differs from that in cardiac and fast skeletal muscles. *FEBS Lett* 1988; 229: 45-8.
33. Genteski-Hamblin A, Greeb J, Shull GE. A novel Ca²⁺ pump expressed in brain, kidney and stomach is encoded by an alternative transcript of the slow-twitch muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase gene. Identification of cDNAs encoding Ca²⁺ and other cation-transporting ATPases using an oligonucleotide probe derived from the ATP-binding site. *J Biol Chem* 1988; 263: 15032-40.
34. Eggermont J, Wuytack F, Casteels R. Characterization of the mRNAs encoding the gene 2 sarcoplasmic/endoplasmic-reticulum Ca²⁺ pump in pig smooth muscle. *Biochem J* 1990; 266: 901-7.
35. Gélébart P, Martin V, Enouf J, Papp B. Identification of a new SERCA2 splice variant regulated during monocytic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 303: 676-84.
36. Anger M J-L y cols. The sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase mRNA isoform, SERCA 3, is expressed in endothelial and epithelial cells in various organs. *FEBS Lett* 1993; 334: 45-48.
37. Bobe R y cols. The rat platelet 97-kDa Ca²⁺ATPase isoform is the sarcoendoplasmic reticulum Ca²⁺ATPase 3 protein. *J Biol Chem* 1994; 269: 14117-24.
38. Mountian I, Manolopoulos VG, De Smedt H. Expression patterns of sarco/endoplasmic reticulum Ca(2+)-ATPase and inositol 1,4,5-trisphosphate receptor isoforms in vascular endothelial cells. *Cell Calcium* 1999; 25: 371-80.
39. Lytton J y cols. Functional comparison between isoforms of the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum family of calcium pumps. *J Biol Chem* 1992; 267: 14483-9.
40. Martin V y cols. Three novel Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca²⁺ATPase (SERCA) 3 isoforms: Expression, regulation and function of the members of the SERCA3 family. *J Biol Chem* 2002; 277: 24442-52.
41. Poch E y cols. Functional characterization of alternatively spliced human SERCA3 transcripts. *Am J Physiol Cell Physiol* 1998; 275: 1449-58.
42. Arredouani A y cols. SERCA3 ablation does not impair insulin secretion but suggests distinct roles of different sarcoendoplasmic reticulum Ca²⁺ pumps for Ca²⁺ homeostasis in pancreatic β -cells. *Diabetes* 2002; 51: 3245-53.
43. Sutliff RL y cols. Phospholamban is present in endothelial cells and modulates endothelium-dependent relaxation. Evidence from

- phospholamban gene-ablated mice. *Circ Res* 1999; 84: 360-4.
44. James P y cols. Nature and site of phospholamban regulation of the Ca²⁺ pump of sarcoplasmic reticulum. *Nature* 1989; 342: 90-92.
 45. Odermatt A y cols. Sarcolipin regulates the activity of SERCA1, the fast-twitch skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase. *J Biol Chem* 1998; 273: 12360-9.
 46. Lindemann JP y cols. β -Adrenergic stimulation of phospholamban phosphorylation and Ca²⁺ ATPase activity in guinea pig ventricles. *J Biol Chem* 1983; 258: 464-71.
 47. Jonh LM, Lechleiter JD, Camacho P. Differential modulation of SERCA2 isoforms by calreticulin. *J Cell Biol* 1998; 142: 963-73.
 48. Roderick HL, Lechleiter JD, Camacho P. Cytosolic phosphorylation of calnexin controls intracellular Ca(2+) oscillations via an interaction with SERCA2b. *J Cell Biol* 2000; 149: 1235-47.
 49. Dremina ES y cols. Anti-apoptotic protein Bcl-2 interacts with and destabilizes the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA). *Biochem J* 2004; 383: 361-70.
 50. Sagara Y, Fernández-Belda F, de Meis L, Inesi G. Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin. *J Biol Chem* 1992; 267: 12606-13.
 51. Brody IA. Muscle contracture induced by exercise. A syndrome attributable to decreased relaxing factor. *N Engl J Med* 1969; 281: 187-92.
 52. Ahn W, Goo Lee M, Hwan Kim, Muallem S. Multiple effects of SERCA2b mutations associated with Darier's disease. *J Biol Chem* 2003; 278: 20795-801.
 53. Miyauchi Y y cols. Comprehensive analysis of expression and function of 51 sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase mutants associated with Darier disease. *J Biol Chem* 2006; 281: 22882-95.
 54. Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev* 2009; 89: 1341-78.
 55. Dode L y cols. Dissection of the functional differences between Sarco(endo)plasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) 1 and 2 isoforms and characterization of darier disease (SERCA2) mutants by Steady-state and transient kinetic analyses. *J Biol Chem* 2003; 278: 47877-89.
 56. Burge SM, Wilkinson JD. Darier-White disease: a review of the clinical features in 163 patients. *J Am Acad Dermatol* 1992; 27:40-5.
 57. Balke CW, Shorofsky SR. Alterations in calcium handling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Res* 1998; 37: 290-9.
 58. Smith G. Matters of the heart: the physiology of cardiac function and failure. *Exp Physiol* 2007; 6: 973-86.
 59. Kranias EG, Bers DM. Calcium and cardiomyopathies. En: Brini M y Carafoli E, Ed. *Calcium Signaling and Disease*. New York: Springer; 2007. P. 523-37.
 60. Del Monte F, Hajjar RJ. Targeting calcium cycling proteins in heart failure through gene transfer. *J Physiol* 2003; 546: 49-61.
 61. Baartscheer A. Adenovirus gene transfer of SERCA in heart failure. A promising therapeutic approach?. *Cardiovasc Res* 2001; 49: 249-52.
 62. Vinge LE, Raake PW, Koch WJ. Gene Therapy in Heart Failure. *Circ Res* 2008; 102: 1458-70.
 63. Schmitt JP y cols. Dilated cardiomyopathy and heart failure caused by a mutation in phospholamban. *Science* 2003; 299: 1410-3.
 64. Franz WM, Muller OJ, Katus HA. Cardiomyopathies: from genetics to the prospect of treatment. *Lancet* 2001; 358: 1627-37.
 65. Prasad V y cols. Haploinsufficiency of Atp2a2, encoding the SERCA2 Ca²⁺ pump, predisposes mice to squamous cell tumors via a novel mode of cancer susceptibility. *Cancer Res* 2005; 65: 8655-61.
 66. Gélébart P y cols. Expression of endomembrane calcium pump in colon and gastric cancer cells: Induction of SERCA3 expression during differentiation. *J Biol Chem* 2002; 277: 26310-20.
 67. Korosec B, Glavac D, Rott T, Ravnik-Glavac M. Alterations in the ATP2A2 gene in correlation with colon and lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 171: 105-11.
 68. Chung FY y cols. Sarco/endoplasmic reticulum calcium-ATPase 2 expression as a tumor marker in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 969-74.
 69. Hendrich B, Bird A. Identification and characterization of a family of mammalian methyl-CpG binding proteins. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 6538-47.
 70. Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. *Molecular Biology of the Gene*. 5ta. ed. San Francisco: Pearson Education; 2004. p. 556-60.
 71. Boyes J, Bird A. Repression of genes by DNA methylation depends on CpG density and promoter strength: evidence for involvement of a methyl-CpG binding protein. *EMBO J* 1992; 11: 327-33.
 72. Sun ZW, Allis CD. Ubiquitination of histone H2B regulates H3 methylation and gene silencing in yeast. *Nature* 2002; 418: 104-8.
 73. Marks PA, Miller T, Richon VM. Histone deacetylases. *Curr Opin Pharm* 2003; 3: 344-51.
 74. Ng HH, Xu R, Zhang Y, Strhl K. Ubiquitination of histone H2B by Rad6 is required for efficient dot1-mediated methylation of histone H3 Lysine 79. *J Biol Chem* 2002; 277: 34655-7.
 75. Lipskaia L, Hulot JS, Lompré AM. Role of sarco/endoplasmic reticulum calcium content and calcium ATPase activity in the control of cell growth and proliferation. *Pflugers Arch-Eur J Physiol* 2007; 457: 673-85.
 76. Denmeade, S. R. & Isaacs, J. T. The SERCA pump as a therapeutic target: making a 'smart bomb' for prostate cancer. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 14-22.
 77. Bergner A, Huber RM. Regulation of the endoplasmic reticulum Ca²⁺-store in cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8: 705-9.
 78. Hakii H, Fujiki H, Sukanuma M, Nakayasu M, Tahira T, Sugimura T, et al. Thapsigargin, a histamine secretagogue, is a non-12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) type tumor promoter in two-stage mouse skin carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1986; 111: 177-81.