

# Gaceta Médica de México

Volumen

**138**

Número

**6**

Noviembre-Diciembre

*November-December* **2002**

*Artículo:*

## Modificaciones epigenéticas de la cromatina en la generación de cáncer

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

### Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

### *Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Medigraphic.com**

# Modificaciones epigenéticas de la cromatina en la generación de cáncer

Francisco Arenas-Huertero\*,\*\* Félix Recillas-Targa\*\*

Recepción versión modificada: 6 de marzo del 2002

aceptación: 26 de junio del 2002

## Resumen

*Hoy en día, la cromatina representa más que una estructura teñida diferencialmente en el núcleo. Es un nivel de organización que permite regular muchos genes a lo largo del ciclo de vida de los organismos eucariontes. Puede utilizar diferentes modificaciones epigenéticas como: metilación del DNA, acetilación/desacetilación y metilación de histonas así como la participación de los complejos de remodelación SWI/SNF. Algunas enfermedades tienen su origen en las alteraciones de algún componente que participa en organizar y/o modificar la cromatina: las enfermedades neoplásicas no son la excepción. La inactivación de promotores de genes supresores de tumor por metilación del DNA puede iniciar el evento neoplásico. La alteración del balance de la acetilación/desacetilación es uno de los eventos dominantes en algunas leucemias y es casi exclusivo para iniciar el fenotipo leucémico. La expresión de genes parentales, que no son inactivados por "imprinting", está asociada con 70% de los casos de tumores de Wilms y 20% de los casos esporádicos de cáncer de colon. Esto permite impulsar el estudio de la estructura de la cromatina en cáncer, la aplicación de compuestos que la pueden modificar para mejorar los efectos de la quimioterapia y radioterapia, abriendo paso a la "Terapia Cromatínica".*

**Palabras clave:** Cáncer, epigenesis, cromatina, metilación, acetilación, desacetilación.

## Summary

*Chromatin is more than a simple staining structure inside the nucleus. It represents a level of organization that regulates transcriptional activation in eukaryotic genes; this may be through epigenetic modifications such as DNA methylation, histone acetylation, deacetylation and methylation, and chromatin remodeling complexes. Chromatin can have a direct impact on regulating gene expression. Several human diseases arise from alterations of epigenetic regulation, causing change in chromatin structure: cancer is not the exception. The expression of tumor suppressor genes can be epigenetically silenced by DNA methylation of their promotor regions. In other cases such as leukemias, imbalance of histone acetylation and deacetylation can be a determinant event to induce a leukemic phenotype. Finally, improper imprinting can also be associated with neoplastic transformation as in Wilms tumors and sporadic colon cancer. All this evidence supports our particular attention to the study of chromatin structure in cancer. The use of compounds that modify chromatin to improve effects of radio- and chemotherapy will open new horizons in what we call Chromatin Therapy in cancer.*

**Key words:** Cancer, epigenesis, chromatin, methylation, acetylation, deacetylation.

\*Departamento de Oncología, Hospital Infantil de México Federico Gómez-SS.

\*\*Departamento de Genética Molecular. Instituto de Fisiología Celular-UNAM.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dr. Francisco Arenas-Huertero. Depto. Oncología, Hospital Infantil de México Federico Gómez-SS. Avenida Dr. Márquez 162. Colonia de los Doctores. 06720. México, D. F. Email: rosco26@excite.com Teléfono: 52-28-99-17, ext 1138. Fax: 57-61-89-74.

## Introducción

El estudio de la estructura de la cromatina ha tomado un impulso importante en los últimos años y ha trascendido hasta el punto de entender varias enfermedades en humanos, incluidos muchos tipos de cáncer. En este punto, tradicionalmente el estudio del cáncer ha implicado la descripción de diferentes mutaciones en el genoma. Esa visión es por supuesto acertada y nada equívoca. Diferentes modelos murinos de carcinogénesis, entre ellos los de hepatocarcinogénesis y la transformación neoplásica de la piel, dejaron claro que se requiere una serie de mutaciones para la aparición de una neoplasia.

Muchos de los estudios persiguieron establecer correlaciones entre la presencia y tipo de mutaciones, en diferentes oncogenes y/o genes supresores de tumor, y los datos clínico-patológicos de los pacientes para ponderar una utilidad pronóstica. En algunos casos no se pudo establecer la correlación directa. Otros reportes fueron contradictorios al resultado esperado: la ausencia de mutaciones en genes supresores de tumor corracionaba con un mal pronóstico para los pacientes. ¿Esto qué estaba sugiriendo? ¿Acaso existe un nivel superior de regulación sobre la actividad de genes supresores de tumor? Probablemente en ese momento histórico, no fue posible dar una explicación directa o convincente. Ahora, sabemos que la inducción de mutaciones no es la única vía para generar una transformación neoplásica. Existe una alteración en la estructura de la cromatina que antecede a la aparición de mutaciones. Este hecho abre una gran brecha en el estudio y comprensión del cáncer. Incluso para el desarrollo y aplicación de nuevas drogas que controlen o modulen a las proteínas que se encargan de la modificación epigenética del genoma.

## Estructura de la cromatina

### A. Estructura del nucleosoma y niveles de organización de la cromatina.

La cromatina es la estructura en la que el DNA se organiza y empaca en el núcleo de la célula eucariote. La unidad primaria es el nucleosoma que está formado por un octámero de histonas dos de cada una de las proteínas histónicas: H2A, H2B, H3 y H4. Un fragmento de 146 pares de bases (pb) de DNA se arregla alrededor de cada octámero (Figura 1). Algunos estudios demostraron que el DNA organizado en el nucleosoma no es accesible a la maquinaria transcripcional. Este efecto se ve favorecido cuando las lisinas del extremo amino-terminal no sufren modificaciones, de hecho las cargas positivas de estos residuos permiten la interacción elec-

trostática con las cargas negativas de los grupos fosfato del DNA, generando una organización más cerrada y compacta.<sup>1</sup>

Las interacciones internucleosomales se ven favorecidas por la quinta histona, la histona H1 y otras proteínas no histónicas como las proteínas de alta movilidad electroforética (HMGs). Así, se organiza el nivel superior de la cromatina generado por la reunión de varios nucleosomas, y formando una hebra de 30 nm de diámetro. Cada hebra se reúne entre sí varias veces para generar otra de mayor grosor y formar parte de una cromátida de un cromosoma que representa el mayor nivel de estructuración de la cromatina<sup>2</sup> (Figura 1).

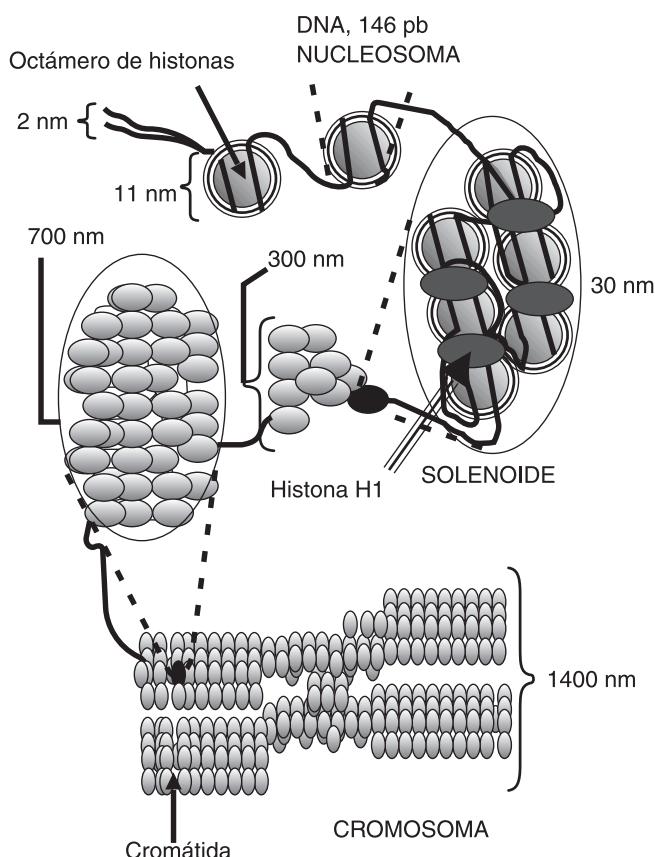


Figura 1. Niveles de organización de la cromatina en una célula eucariote. El DNA se organiza con el octámero de histonas para formar el nucleosoma. Se indican las dimensiones en diámetro de diferentes niveles de organización de la cromatina.

### B. Las modificaciones no reguladas de las histonas por acetilación y metilación, pueden participar en el desarrollo de cáncer.

#### Acetilación de histonas

Se sabe que la acetilación está relacionada con la regulación de la transcripción genética. Esta relación se

corrobó al observar que los complejos activadores de la transcripción poseen funciones de acetiltransferasas de histonas.<sup>3</sup> Por otro lado, los complejos co-represores poseen actividad de desacetilasas de histonas y confieren represión transcripcional.<sup>4</sup> De esta manera, el proceso de acetilación de histonas es dinámico y los residuos de lisinas modificados hacia el extremo amino-terminal, son hiperacetilados con vidas medias de pocos minutos en zonas de cromatina transcripcionalmente activa.<sup>5</sup> Para la histona H4, los residuos 5, 8, 12 y 16 son los sitios de lisinas que pueden acetilarse. La histona H3 tiene 4 residuos potenciales de modificación: éstos son el 14, 18, 23 y 27 (Figura 2). Finalmente, para las H2A y H2B los sitios de acetilación son los residuos 5; así como el 5, 12, 15 y 20, respectivamente.<sup>6</sup> La acetilación facilita la unión de los factores de transcripción a las secuencias de DNA en las zonas promotoras de los genes, fomentando una estructura abierta de la cromatina.<sup>7</sup> Incluso, la acetilación incrementa la solubilidad de la cromatina en medios más acuosos.<sup>8</sup> Sin embargo, los niveles de acetilación requeridos para facilitar la transcripción son realmente bajos, del total de 28 residuos potenciales de lisinas a modificar por octámero de histonas, con sólo 12 de ellas que estén acetiladas se eleva hasta 15 veces más la tasa de transcripción *in vitro*.<sup>9</sup> La acetilación no regulada y su participación en cáncer, se describirá en detalle en un apartado más adelante de esta revisión.

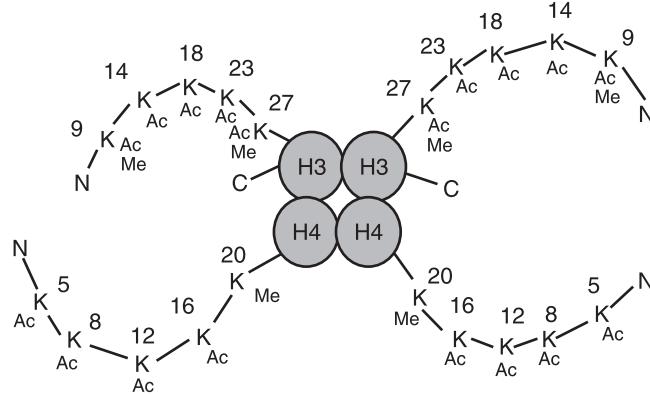


Figura 2. Residuos de aminoácidos de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 que son sujetos a modificaciones covalentes: acetilación y metilación. Los números indican los residuos a modificar. K, lisina. Ac, acetilación. Me, metilación. Ub, ubiquitinación. Los círculos en la figura indican la parte hidrofóbica de las histonas.

### Metilación de las histonas

Rea y cols<sup>10</sup> demostraron que la proteína SUV39H1 en humano y ratón, codifica para una metiltransferasa de histona, que es capaz de metilar de manera selectiva a la lisina 9 de la región amino-terminal de la histona H3. Ahora bien, funcionalmente se demostró una correla-

ción entre la fosforilación de la serina 10 y la acetilación de la lisina 9, efecto que favorece la activación transcripcional. Por el contrario, la metilación de la lisina 9 inhibe la fosforilación de la serina 10 y genera un silenciamiento génico. Existe otro participante, la proteína de heterocromatina 1 (HP1), que es parte integral de la heterocromatina: posee un cromodomino que tiene la capacidad de unirse de manera específica y con alta afinidad a la lisina 9 metilada.<sup>11,12</sup> De manera interesante, la lisina 14 también puede ser metilada, pero a diferencia de la lisina 9, la proteína HP1 no se le une. Todas estas observaciones hacen patente una nueva vía de regulación mediante la modificación postraduccional de las histonas. En particular, la metilación de la lisina 9 y la consecuente unión de la HP1, inician la formación de heterocromatina como un medio de silenciamiento. La metilación de la histona H3 y la presencia de la proteína HP1, también pueden reprimir genes eucromáticos: la proteína HP1 puede interaccionar con la proteína Rb (de retinoblastoma), y la proteína SUV39H1, y en conjunto regular negativamente la expresión del gen de la ciclina E<sup>12</sup>. Este complejo es reclutado a la región de control de este gen, gracias al factor transcripcional E2 que interacciona con Rb y reclutan SUV39H1. El reclutar a desacetilasas de histonas por la proteína Rb, es uno de los mecanismos de silenciamiento de genes relacionados a Rb y también en la progresión del ciclo celular.<sup>13</sup> Así, se puede concluir que la represión transcripcional realizada por Rb, requiere de la acción conjunta de desacetilasas y de metiltransferasas de histonas.<sup>14</sup> De esta manera, no sólo las mutaciones en el gen Rb pueden predisponer al desarrollo de cáncer, sino también la alteración en el mecanismo de metilación de la H3 puede afectar la función reguladora del gen.

### C. Modificación del DNA: metilación y su papel en el silenciamiento genético y en la inducción de cáncer

La metilación del DNA es un proceso importante en la regulación epigenética. Consiste en la incorporación de un grupo metilo en la citosina del dinucleótido CpG. Participa en la regulación de etapas tempranas del desarrollo, así como en la inmovilización de transposones, manteniendo una mayor estabilidad.<sup>15</sup> La metilación del DNA puede regular la expresión génica por dos mecanismos:

- Por interferencia directa en la unión de los factores de transcripción con secuencias blanco, evitando su activación.
- La unión de proteínas que reconocen al DNA metilado, conocidas como "Methyl-CpG-binding proteins", unen co-represores y éstos además reclutan

desacetilasas de histonas, generando una cromatina altamente compacta.<sup>16</sup>

Las células de mamíferos si no están bajo control tienen un gran potencial de duplicación celular: si una célula tiene ciclos de duplicación de 24 h, al paso de aproximadamente 40 días, puede generar una masa tumoral de 1 kg<sup>17</sup> (10<sup>12</sup> células). Desde la propuesta de Knudsen<sup>18</sup> en 1971 sobre la generación de retinoblastoma, hoy en día se reconoce que muchos genes supresores de tumor se pueden inactivar por un evento de metilación aberrante de las "islas" CpGs en sus regiones promotoras.<sup>19</sup> De esta manera, se propone un modelo de inactivación de algún gen, mediante alguno de estos eventos:

1. Que el gen sufra mutación en un alelo y metilación aberrante en el otro.
2. Que un alelo sufra delección y el otro alelo metilación aberrante.
3. Que ambos alelos se metilen aberrantemente en el promotor.

El mecanismo por el que ocurre la metilación aberrante no se conoce. Es posible que estén sucediendo uno de los siguientes eventos: que la DNA metiltransferasa cometiera errores al metilar CpGs en "islas" de los promotores de genes, de la cadena de DNA recién sintetizada, o con la cadena complementaria sin CpGs metiladas. También es posible que las proteínas de unión a CpGs se pierdan, y de esta manera no protejan estos sitios de ser metilados.<sup>17</sup>

Enseguida se enlistan algunos genes en los que se ha reportado metilación en sus promotores y su participación en diferentes neoplasias:

1. Inhibidor de ciclinas dependientes de cinasas, p16.<sup>20</sup>
2. Alteración del gen de la caderina E.<sup>21</sup>
3. Modificaciones del receptor a estradiol.<sup>22,23</sup>
4. Modificaciones al gen del receptor al ácido retinoico.<sup>17,24</sup>
5. Metilación del gen BRCA1.<sup>25</sup>
6. El gen de la trombospondina-1.<sup>26</sup>

En resumen, el silenciamiento por metilación del DNA de regiones de control de muchos genes que están participando en el proceso de tumorigénesis en el humano sugiere que este evento tiene un papel importante en el desarrollo de cualquier proceso maligno que lleva al desarrollo de cáncer. Y sobre este punto, además, surge la importancia de considerar a los inhibidores de la metilación, como posibles drogas con efectos terapéuticos, para mejorar incluso el efecto de las modalidades existentes como la quimio y la radioterapia.<sup>19</sup>

#### *D. El complejo remodelador de la cromatina SWI/SNF y su participación en cáncer*

Existen varios complejos proteicos que modifican la distribución de los nucleosomas a lo largo del DNA remodelando la cromatina a expensas del consumo de ATP. En sus orígenes el análisis de complementación en mutantes de levadura permitió la identificación de dos genes que participan en este remodelamiento: uno participa en el "switching" de genes que participan en el apareamiento (en inglés: switching, SWI); y el otro gen participa en el proceso de utilización de fuentes alternas de carbono, denominado SNF.<sup>27</sup> Lo importante en estos dos genes es que las proteínas están altamente conservadas entre diferentes especies, desde levaduras y *Drosophila* hasta el humano.<sup>28</sup>

Uno de los componentes del complejo SWI/SNF se ha asociado al desarrollo de cáncer, propiamente el de la subunidad con actividad de ATPasa. En el humano existen dos proteínas homólogas: BRG1 y BRM. Se sabe que estas dos proteínas en el humano remodelan la estructura de la cromatina.<sup>29</sup> Las proteínas BRG1 y BRM interaccionan con la proteína Rb, mientras que BRG1 interacciona solamente con la proteína BRCA1.<sup>30</sup> BRG1 incrementa la acción inhibidora de la transcripción de E2F y se requiere para llevar a cabo la señalización de los efectores que participan posteriormente, para detener el ciclo celular.<sup>31</sup> La pérdida de función de BRG1 por mutación en células tumorales, provoca un fenotipo resistente a la regulación de Rb, a pesar de que Rb no tenga ningún tipo de mutación. Esta es una nueva vía que las células tumorales pueden usar para la proliferación celular.<sup>31</sup>

En relación a BRCA1, se sabe que actúa como co-activador de la transcripción mediada por p53, por su interacción con la acetiltransferasa de histonas CBP/p300.<sup>32</sup> De esta manera, se postula que BRCA1 es un componente del complejo SWI/SNF que regula la transcripción modulando la estructura de la cromatina.<sup>30</sup>

Un análisis molecular de rabdomiosarcomas permitió definir claramente la presencia de mutaciones en los genes SWI/SNF, como una causa directa para el desarrollo de este tipo de tumores.<sup>29</sup>

#### *E. Conservación de los dominios cromatínicos: el papel del código tridimensional en la generación de cáncer*

Existe un gran parecido en la conducta celular entre las células neoplásicas y las células embrionarias.<sup>33</sup> Este evento está relacionado con el tamaño de los dominios cromatínicos o "loops" en las células, que se forman gracias a la unión de algunas zonas del DNA a la matriz

nuclear, denominadas sitios de unión a la matriz nuclear<sup>34</sup> (en inglés: "Matrix Attachment Regions", MAR; también conocidas como "Scaffold Attachment Regions, SAR"). Algunas de las proteínas que se encuentran asociadas a las MARs son las láminas A y C<sup>34</sup> y la topoisomerasa II.<sup>35</sup> El tamaño de los "loops" puede variar de 20 kilobases (kb) a 200 kb, pero se demostró que los dominios se incrementan de 50 kb en las células embrionarias a 200 kb en células de adultos.<sup>33</sup> Por ejemplo, para células transformadas Linskens y cols<sup>36</sup> observaron una disminución importante en el tamaño de los dominios y Oberhammer y cols<sup>37</sup> demostraron una reducción a 50 kb en varias líneas celulares neoplásicas de humano. Esta organización física de los dominios, tiene consecuencias fisiológicas importantes ya que los sitios de unión del DNA en la matriz nuclear colocalizan con los sitios de inicio de la transcripción para generar una unidad de replicación o replicón<sup>38</sup> (Figura 3). Así, el tamaño de un dominio parece estar directamente relacionado con la capacidad de replicación: dominios más pequeños y numerosos significan también el posicionamiento de un mayor número de replicones y por lo tanto, una tasa elevada de replicación celular, característica notable en las células embrionarias y tumorales.<sup>33</sup>

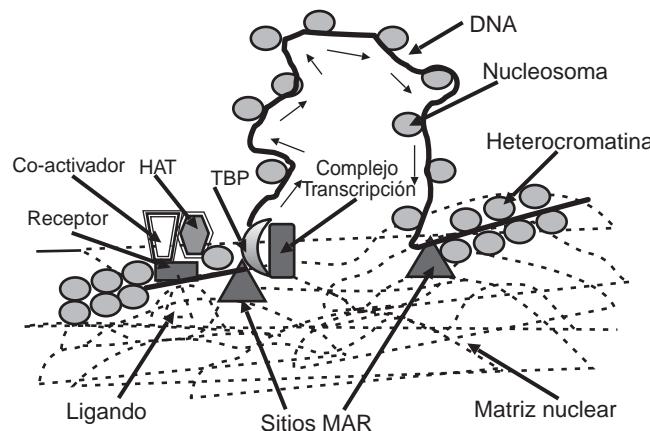


Figura 3. Modelo propuesto de la organización de un dominio en "loop" o asa de un gen o grupo de genes, para el inicio de la transcripción. Las flechas indican el inicio de la transcripción. HAT, acetiltransferasa de histonas. MAR, sitio de unión a la matriz nuclear. TBP, proteína de unión a la caja TATA.

#### F. El "imprinting" incorrecto puede predisponer al desarrollo de cáncer.

En los mamíferos, el genoma de cada progenitor se requiere para el desarrollo embrionario normal y después del nacimiento. Las diferencias funcionales entre cada genoma parental hacen que los genes paternos tiendan a aumentar el crecimiento embrionario y fetal,

mientras que muchos de los genes de origen materno ejercen efectos negativos sobre el crecimiento. Esta no equivalencia funcional entre los genes parentales es mediada por el "imprinting" genómico que es un mecanismo epigenético en el que la expresión de ciertos genes depende de si son heredados de la madre o del padre.<sup>39</sup>

Aproximadamente 50 genes humanos y del ratón tienen una expresión que depende del tipo parental. Muchos de estos genes regulados por "imprinting" tienen papeles muy importantes durante la proliferación y el desarrollo de tejidos embrionarios y extraembrionarios.<sup>40</sup> Actualmente se sabe que el "imprinting" es un factor que participa en el desarrollo de enfermedades y en la carcinogénesis en el humano.<sup>40</sup>

Varias entidades neoplásicas están asociadas con la pérdida preferencial de un cromosoma parental, sugiriendo la pérdida de genes regulados por "imprinting". Algunos ejemplos son la pérdida paternal del cromosoma 7 en la leucemia aguda mieloide, la región 1p36 de origen materno y del cromosoma 2 paterno en neuroblastoma y la pérdida del locus 11p15.5 de origen materno en el rabdomiosarcoma y en el tumor de Wilms. La pérdida de heterocigosidad o la disomía uniparental (la herencia de dos alelos de un gen del mismo progenitor) en un gen regulado por "imprinting", puede causar la falta de expresión de la única copia de un gen supresor de tumor. El otro hecho es que la pérdida de "imprinting" o disomía uniparental de un gen con función promotora de crecimiento puede provocar un incremento en la expresión genética.<sup>41</sup> Uno de los mejores ejemplos de "imprinting" aberrante estudiados en cáncer es el tumor de Wilms. El 70% de estos tumores expresan el gen IGF2 de forma bialélica.<sup>42</sup> La pérdida de heterocigosidad de IGF2 en las células de la mucosa del colon, puede predisponer a una hipermetilación de varios genes, incluidos el gen de reparación MLH1, seguido por inestabilidad genómica y formación de tumores.<sup>43</sup> Otros genes que sufren un "imprinting" incorrecto en cáncer son el WT1, p57KIP, NOEY2 e IGF2R.<sup>42</sup>

#### Participación de las acetiltransferasas de histonas (HATs) y los coactivadores en la generación del cáncer.

##### A. La generación de proteínas de fusión en las leucemias

La alteración de la estructura de la cromatina por un desbalance de la acetilación de histonas puede dar origen a enfermedades neoplásicas como las leucemias. De hecho, muchas translocaciones cromosómicas que generan proteínas de fusión en las leucemias, contienen dominios de acetiltransferasas de histonas,

HATs.<sup>23</sup> Varias de las proteínas de fusión contienen el dominio de actividad de acetiltransferasa y el bromodomio de la proteína CBP, que es una HAT. Los genes de CBP y p300 se han definido como proteínas supresoras de tumor, y son importantes para la diferenciación celular y para el desarrollo en el ser humano.<sup>44</sup>

La primera translocación descrita fue en la leucemia aguda mieloide subtipo M4/M5 con la t(8; 16) (p11; p13). En ésta, la proteína MOZ (del inglés "MonOcytic leukemia Zinc finger protein") se fusiona al extremo amino-terminal de la HAT CBP. En la proteína de fusión MOZ-CBP, el dominio de "zinc fingers" y el de actividad de acetiltransferasa de MOZ, se fusiona a un fragmento de CBP que contiene a su vez, los dominios CREB y de unión a E1A, así como el bromodomino y el de actividad de HAT. La proteína de fusión resultante, genera dos dominios HAT y un bromodomino.<sup>23</sup>

La proteína de fusión MORF-CBP se describió en la t(10;16) (q22;p13) que genera el subtipo de leucemia M5a de tipo aguda mieloide. La proteína MORF (del inglés: "MonOcytic leukemia Zinc Finger protein-Related Factor") muestra una alta similitud en secuencia, a la proteína MOZ. También tiene actividad de HAT, un dominio de represión transcripcional en el extremo amino-terminal, y un dominio de activación transcripcional en el extremo carboxilo-terminal.<sup>45</sup> Los dominios de represión transcripcional y de HAT de MORF se fusionan con el dominio HAT de CBP.

La HAT CBP participa en la translocación t(11;16) (q23;p13) que se genera *de novo* en un tipo de leucemia mielomonocítica M4, asociada al tratamiento previo de leucemia mieloide.<sup>46</sup> En este caso, CBP se fusiona al gen MLL (del inglés "Mixed Lineage Leukemia"). La proteína de fusión contiene los dominios "AT-Hooks" y la región de homología de metiltransferasa de MLL, se fusiona a las regiones de CBP descritas en las translocaciones anteriores, con el dominio de actividad de HAT.<sup>47</sup>

Existe una translocación menos común en la que se fusionan MLL con la HAT p300. La aberración cromosómica descrita es la t(11;22)(q23;q13) en casos con leucemia aguda mieloide y la proteína lleva el bromodomino de p300, además de los dominios de "dedos de zinc" y de actividad de HAT.<sup>48</sup>

El tratamiento de los síndromes mielodisplásicos o de las leucemias agudas, con frecuencia involucra la translocación del gen MLL en el sitio cromosómico 11q23.<sup>49</sup> El gen MLL participa en la fusión con otros genes en diferentes aberraciones cromosómicas. En la t(11;16) se produce el gen de fusión MLL-CBP que induce un fenotipo leucémico *in vivo*.<sup>47</sup> En la t(11; 22)(q23; q13) se produce una proteína de fusión MLL-p300. La proteína MLL es homóloga al gen trithorax de *Drosophila*, (trx), el cual controla la expresión de algunos genes homeóticos.<sup>48</sup> El efecto transformante de la proteína de fusión, reside sólo si el dominio de actividad de HAT y el

bromodomino de CBP se ven fusionados desde la traslocación, ya que el dominio de actividad HAT solo, es incapaz de generar transformación.<sup>47</sup>

### Participación de las desacetilasas de histonas (HDACs) y los co-represores en la generación del cáncer

#### A. Generación de proteínas de fusión en casos de leucemias agudas.

Las leucemias agudas, en términos generales se producen cuando se bloquea la diferenciación de las células hematopoyéticas inmaduras y éstas proliferan sin restricción.

El primer caso, el de la leucemia aguda promielocítica, se caracteriza por la aparición de la translocación (15;17). Esta aberración cromosómica produce un gen químérico entre el receptor  $\alpha$  para el ácido retinoico, con el gen PML (del inglés "ProMielocytic Leukemia"). Un porcentaje menor de casos muestra la t(11;17) que fusiona de nuevo parte del receptor  $\alpha$  para el ácido retinoico, con la proteína PLZF que es un factor requerido para la diferenciación blástica (del inglés "Promyelocytic Leukemia Zinc Finger") y tiene 9 dominios de unión a DNA del tipo "dedos de zinc". También participa en el desarrollo del sistema nervioso central. ¿Cuál es el papel del receptor para el ácido retinoico? El receptor  $\alpha$  se une al DNA como un heterodímero con el receptor RXR. En ausencia del ácido retinoico, que induce la diferenciación de las células promielocíticas, el heterodímero RAR $\alpha$ /RXR se une a un complejo co-represor formado por NCoR/Sin3A/HDAC.<sup>49</sup> En presencia de ácido retinoico, el complejo co-represor es desplazado y reemplazado por uno de tipo co-activador que contiene las HATs p300/CBP y PCAF. Sin embargo, a pesar de que se encuentra en las proteínas de fusión anteriores parte del receptor para el ácido retinoico, éste no se activa por la presencia de concentraciones fisiológicas del ácido. En el caso de los pacientes con leucemia por la t(15;17), la administración de dosis farmacológicas del ácido retinoico, es la única forma de liberar de la represión y activar los genes correspondientes. Sin embargo, para el caso de la t(11;17), existe la formación de dos complejos co-represores en los que sólo uno responde a la administración de concentraciones farmacológicas de ácido retinoico, pero la fracción de la proteína de fusión formada por la proteína PLZF mantiene reclutado el complejo co-represor. *In vitro* se demostró que la administración de inhibidores de HDACs en células leucémicas con la translocación (11;17) es efectiva para liberar de la represión y activar algunos genes de diferenciación mieloide, además de presentar cam-

bios morfológicos de madurez en los blastos, por ejemplo el arreglo y la morfología del núcleo.<sup>49</sup>

En la leucemia aguda mieloide con la t(8;21), una parte del gen AML1 (del inglés: "Acute Myeloid Leukemia") se fusiona con una proteína denominada ETO (del inglés: "Eight Twenty One"). Este complejo activa la expresión de genes requeridos para la diferenciación mieloide y para la adquisición de la madurez.<sup>50</sup> En el complejo de unión al DNA, AML1 forma un heterodímero con una segunda proteína, CBF $\beta$  y este nuevo complejo parece funcionar como el activador transcripcional interaccionando con p300/PCAF.<sup>51</sup> La proteína ETO se describió por su capacidad de formar un complejo con el co-represor formado por NCoR y Sin3A y la HDAC. De esta manera se lleva a cabo la represión de los genes, mediada por AML1.<sup>52</sup>

Existen otras translocaciones en diferentes casos de leucemia aguda mieloide, en las que una fracción del gen AML1 también participa en la generación del gen químerico. En el caso de la leucemia con la translocación (12;21), una parte del gen de AML1 se fusiona con un segundo factor transcripcional denominado TEL<sup>53</sup> (del inglés: "Translocation, Ets, Leukemia") Otro caso es el de la leucemia con la translocación (16;21), en la que AML1 se fusiona con MTG16 (del inglés: "Myeloid Tumor Gene 16"), que es una proteína de estructura muy similar a la proteína ETO.<sup>53</sup> La t(3;21) fusiona AML1 con Evi 1 que es un represor transcripcional.<sup>54</sup>

Finalmente, en la inv(16) se fusiona la proteína CBF $\beta$  con un gen de la cadena pesada de la miosina. Esta aberración retiene la capacidad para interaccionar con AML1 de tal manera que la inducción del estado neoplásico de los blastos se realiza por la alteración de la activación transcripcional mediada por AML1.<sup>50</sup>

## Conclusiones

Es evidente que el campo de estudio de las modificaciones epigenéticas de la cromatina en la generación de cáncer empieza a tomar un impulso muy importante en este nuevo siglo. Pero lo más importante es que la generación de cáncer, de acuerdo con el aprendizaje logrado de los diferentes modelos de carcinogénesis, es más que una serie de eventos que generan mutaciones: estos eventos en realidad son la expresión final de los cambios irreversibles que facilitan el proceso de progresión tumoral. El nuevo enfoque tiene que considerar que en las etapas tempranas del desarrollo tumoral se presentan modificaciones epigenéticas del genoma: desde los cambios en la organización de los dominios cromáticos hasta la generación de estructuras cromáticas más cerradas y/o metilaciones aberrantes en regiones de control de los genes. Estos son los primeros eventos

durante el proceso carcinogénico. De hecho, en el estudio molecular en los diferentes modelos animales de cáncer se debe considerar cómo los diferentes agentes promotores, iniciadores y/o progresores, son capaces de alterar la estructura de la cromatina, para integrarlo al conocimiento generado sobre la serie de mutaciones que se llevan a cabo para el desarrollo del cáncer.

## Perspectivas

De manera tradicional se han desarrollado drogas con efectos citotóxicos para el control de las células tumorales. Hoy la tendencia está cambiando para desarrollar drogas que sean capaces de activar vías de muerte celular e inducir apoptosis.<sup>55</sup> La efectividad de las drogas antineoplásicas puede mejorar si se dirigen a alterar las diferentes vías de muerte celular, o a inducir modificaciones en el DNA, en los diferentes niveles de organización de la cromatina. Sin embargo, también las alteraciones de la estructura de la cromatina pueden inducir un fenotipo resistente a diferentes modalidades de tratamiento en las células tumorales.<sup>56</sup> A pesar de que los tumores con altas tasas de proliferación son realmente malignos también son muy sensibles a quimioterapia y pueden lograrse controles muy rápidos y efectivos del tumor. Un análisis cuidadoso en estos tumores, permite ver que las células tienen la cromatina en un estado más abierto y menos compacto, y por lo tanto, más lábil al efecto de las drogas antineoplásicas. Esta modificación de la cromatina, presupone también un estado de acetilación elevada de las proteínas histónicas, que permite a su vez la transcripción de los genes requeridos para el ciclo celular. Este hecho contrasta con el efecto que genera la radiación ionizante en la cromatina. La radiación activa un sistema de defensa, gracias a la acción de una molécula señal: la proteína ATM (del inglés: "Ataxia Telangiectasia Mutated") que es capaz de reclutar a la HDAC1 e incrementar el nivel de desacetilación de las histonas y generar así una estructura de la cromatina más cerrada.<sup>57</sup> Es importante diferenciar si la tasa de replicación de una célula radiorresistente es baja y posee una cromatina más cerrada. En este caso, una aplicación práctica es el uso de drogas inhibidoras de las desacetilasas de histonas, para generar una cromatina abierta y expuesta al daño por los diferentes agentes antineoplásicos, o por efecto de los radicales libres y superóxido, generados por acción de la radiación ionizante. Este efecto puede además incrementar la tasa de replicación y acortar el ciclo celular, lo cual da por resultado un fenotipo aún más quimiosensible.<sup>58</sup> Por otro lado, existen datos que revelan que los inhibidores de las desacetilasas de histonas presentan actividad citostática sugiriendo que la acetilación de histonas posiblemente

te sea un mecanismo, en algunos casos, que permita mantener el fenotipo tumoral.<sup>59</sup> Finalmente, y a manera de contraste, el modificar el estado de la metilación del DNA puede afectar fuertemente la expresión de genes que están inactivados por modificación epigenética incorrecta, lo que sugiere que el uso de drogas que inhiben la metilación del DNA, puede ser útil para el tratamiento y control de una enfermedad neoplásica. En este caso, por la expresión de genes requeridos para el control del estado diferenciado de una célula y con apoyo en el hecho de que la combinación con inhibidores de las desacetilasas de histonas, mejora aún más la transcripción de estos genes.<sup>17</sup> De esta manera, así como la terapia génica representa una opción para el tratamiento de tumores, el desarrollo de la terapia cromatínica o de modificación cromatínica,<sup>56</sup> representa una opción con el mismo impacto que las nuevas terapias existentes para el control de cáncer y para mejorar el efecto de la quimio y radioterapia ya existentes.

## Agradecimientos

Este trabajo se realizó gracias a los apoyos proporcionados por el CONACYT (33863-N), la Dirección General de Asuntos del Personal Académico-UNAM (IN203200) y la fundación "Miguel Alemán" para el Dr. Félix Recillas-Targa. También por el de Instalación del CONACYT (I37941-M), de la Fundación Canadiense "Terry Fox" y de la Fundación "Azteca" a través de "A quien corresponda" para el Dr. Francisco Arenas-Huertero.

## Referencias

1. **Wolffe AP, Hayes JJ.** Chromatin disruption and modification. *Nucleic Acids Res* 1999;27:711-720.
2. **Davie JR, Chadee DN.** Regulation and regulatory parameters of histone modifications. *J Cell Biochem* 1998;30:203-213.
3. **Kuo M-H, Zhou J, Jambeck P, Churchill MEA, Allis CD.** Histone acetyltransferase activity of yeast Gcn5p is required for the activation to target genes *in vivo*. *Genes Dev* 1998;12:627-639.
4. **Wong J, Patterson D, Imhof A, Shi Y-B, Wolffe AP.** Distinct requirements for chromatin assembly in transcriptional repression by thyroid hormone receptor and histone deacetylase. *EMBO J* 1998;17:520-534.
5. **Zhang D-E, Nielson DA.** Histone acetylation in chicken erythrocytes. Rates of acetylation and evidence that histones in both active and potentially active chromatin are rapidly modified. *Biochem J* 1988;250:233-240.
6. **Davie JR, Spencer VA.** Control of histone modifications. *J Cell Biochem Suppl* 1999;32/33:141-148.
7. **Lefebvre D, Mouchon A, Lefebvre B, Formstecher P.** Binding of retinoic acid receptor heterodimers to DNA-role for histones NH<sub>2</sub> termini. *J Biol Chem* 1998;273:12288-12295.
8. **Perry M, Chalkley R.** Histone acetylation increases the solubility of chromatin and occurs sequentially over most of the chromatin. *J Biol Chem* 1982;257:7336-7347.
9. **Tse C, Sera T, Wolffe A P, Hansen JC.** Disruption of higher order folding by core histone acetylation dramatically enhances transcription of nucleosomal arrays by RNA polymerase III. *Mol Cell Biol* 1998;18:4629-4638.
10. **Rea S, Eisenhaber F, O'Carroll D, Strahl BD, Sun ZW, Schmid M, Opravil S, Mechtler K, Ponting CP, Allis CD, Jenuwein T.** Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferase. *Nature* 2000;406:579-580.
11. **Lachner M, O'Carroll D, Rea S, Mechtler K, Jenuwein T.** Methylation of histone H3 lysine 9 creates a binding site for HP1 proteins. *Nature* 2001;410:116-120.
12. **Nielson SJ, Schneider R, Bauer U-M, Bannister A J, Morrison A, O'Carroll D, Firstein R, Cleary M, Jenuwein T, Herrera RE, Kouzarides T.** Rb targets histone H3 methylation and HP1 to promoters. *Nature* 2001;412:561-565.
13. **Luo RX, Postigo AA, Dean DC.** Rb interacts with histone deacetylase to repress transcription *Cell* 1998;92:463-473.
14. **Zhang Y, Reinberg D.** Transcription regulation by histone methylation: interplay between different covalent modifications of the core histone tails. *Genes Dev* 2001;15:2343-2360.
15. **Bird A.** DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002;16:6-21.
16. **Bird AP, Wolffe AP.** Methylation-induced repression-bets, braces and chromatin. *Cell* 1999;24:451-454.
17. **Momparler RL, Bovenzi V.** DNA methylation and cancer. *J Cell Physiol* 2000;183:145-154.
18. **Knudsen AG.** Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:820-823.
19. **Jones PA, Laird PW.** Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999;21:163-167.
20. **Herman JG, Merlo A, Mao L, Lapidus RG, Issa J-PJ, Davidson NE, Sidransky D, Baylin SB.** Inactivation of the CDKN2/p16MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer Res* 1995;55:4525-4530.
21. **Hiraguri S, Godfrey T, Nakamura H, Graff J, Collins C, Shayesteh L, Doggett N, Johnson K, Wheelock M, Herman J, Baylin S, Pinkel D, Gray J.** Mechanisms of inactivation of E-cadherin in breast cancer cell lines. *Cancer Res* 1998;58:1972-1977.
22. **Lapidus RG, Nass SJ, Davidson NE.** The loss of estrogen and progesterone receptor gene expression in human breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998;3:85-94.
23. **Redner RL, Wang J, Johnson ML.** Chromatin remodeling and leukemia: new therapeutic paradigms. *Blood* 1999;94:417-428.
24. **Crowe DL.** Retinoic acid receptor b induces terminal differentiation of squamous cell carcinoma lines in the absence of cyclin-dependent kinases inhibitor expression. *Cancer Res* 1998;58:142-148.
25. **Rice JC, Futscher BW.** Transcriptional repression of BRCA1 by aberrant cytosine methylation, histone hypoacetylation and chromatin condensation of the BRCA1 promotor. *Nucleic Acids Res* 2000;28:3233-3239.
26. **Li Q, Ahuja N, Burger PC, Issa JP.** Methylation and silencing of the thrombospondin-1 promoter in human cancer. *Oncogene* 1999;18:3284-3289.
27. **Armstrong JA, Emerson BM.** Transcription of chromatin: these are complex times. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:165-172.
28. **Bazett-Jones DP, Cote J, Landel CC, Peterson CL, Workman JL.** The SWI/SNF complex creates loop do-

- mains in DNA and polynucleosomal arrays can disrupt DNA-histone contacts within these domains. *Mol Cell Biol* 1999;19:1470-1478.
29. **Chakraborty S, Senyuk V, Nucifora G.** Genetic lesions and perturbation of chromatin architecture: a road to cell transformation. *J Cell Biochem* 2001;82:310-325.
  30. **Bochar DA, Wang L, Beniya H, Kinev A, Xue Y, Lane WS, Wang W, Kashanchi F, Shiekhattar R.** BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer. *Cell* 2000;102:257-265.
  31. **Strobeck MW, Knudsen KE, Fribourg AF, DeCristofaro MF, Weissman BE, Imbalzano AN, Knudsen ES.** BRG1 is required for RB-mediated cell cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7748-7753.
  32. **Pao GM, Janknecht R, Ruffner H, Hunter T, Verma IM.** CBP/p300 interact and functions as transcriptional coactivators of BRCA1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1020-1025.
  33. **Vassetzky YS, Hair A, Razin SV.** Rearrangement of chromatin domains in cancer and development. *J Cell Biochem Suppl* 2000;35:54-60.
  34. **Luderus MEE, de Graaf A, Mattia E, den Balen JL, Grande MA, de Jong L, Van Driel R.** Binding of matrix attachment regions to lamin B1. *Cell* 1992;70:949-959.
  35. **Berrios M, Osheroff N, Fisher A.** *In situ* localization of DNA topoisomerase II, a major polypeptide component of the *Drosophila* nuclear matrix fraction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:4142-4146.
  36. **Linskens MH, Eijsermans A, Dijkwel PA.** Comparative analysis of DNA loop length in non transformed and transformed hamster cells. *Mutat Res* 1987;178:245-256.
  37. **Oberhammer F, Wilson JW, Dive C, Morris ID, Hickman JA, Wakeling AE, Walker PR, Sikorska M.** Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. *EMBO J* 1993;12:3679-3684.
  38. **Razin SV, Kekelidze MG, Lukandin EM, Scherrer K, Georgiev GP.** Replication origins are attached to the nuclear skeleton. *Nucl Acids Res* 1986;14:8189-8207.
  39. **Tilghman SM.** The sins of the fathers and mothers: genomic imprinting in mammalian development. *Cell* 1999;96:185-193.
  40. **Thompson SL, Konfortova G, Gregory RI, Reik W, Dean W, Feil R.** Environmental effects on genomic imprinting in mammals. *Toxicol Lett* 2001;120:143-150.
  41. **Feinberg AP.** Imprinting of a genomic domain of 11p15 and loss of imprinting in cancer: an introduction. *Cancer Res* 1999;59:1743s-1746s.
  42. **Fröhwald MC, Plass CH.** Global and gene-specific methylation patterns in cancer: aspects of tumor biology and clinical potential. *Mol Genet Metab* 2002;75:1-16.
  43. **Nakagawa H, Chadwick RB, Peltomaki P, Plass C, Nakamura Y, de La Chapelle A.** From the cover: loss of imprinting of the insulin-like growth factor II gene occurs by biallelic methylation in a core region of H19-associated CTCF-binding sites in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:591-596.
  44. **Goodman RH, Smolik S.** CBP/p300 in cell growth, transformation and development. *Genes Dev* 2000;14:1553-1577.
  45. **Champagne N, Bertos NR, Pelletier N, Wang AH, Vezmar M, Yang Y, Heng HH, Yang X.** Identification of human histone acetyltransferase related to monocytic leukemia zinc finger protein. *J Biol Chem* 1999;274:28528-28536.
  46. **Sobulo OM, Borrow J, Tomek R, Reshmi S, Harden A, Schlegelberger B, Housman D, Doggett NA, Rowley JD.** MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy-related acute myeloid leukemia with a t(11; 16)(q23; p13.3). *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8732-8737.
  47. **Lavau C, Du C, Thirman M, Zeleznik-Le N.** Chromatin-related properties of CBP fused to MLL generate a myelodysplastic-like syndrome that evolves into myeloid leukemia. *EMBO J* 2000;19:4655-4664.
  48. **Kennison JA.** The polycomb and trithorax group proteins of *Drosophila*: trans-regulators of homeotic gene function. *Annu Rev Genet* 1995;29:289-303.
  49. **Grignani F, De Matteis S, Nervi C, Tomassoni L, Gelmetti V, Cioce M, Fanelli M, Ruthardt M, Ferrara FF, Zamir I, Seiser C, Grignani F, Lazar MA, Minucci S, Pelicci PG.** Fusion proteins of the retinoic acid receptor-alpha recruit histone deacetylase in promyelocytic leukemia. *Nature* 1999;391:815-818.
  50. **Lenny N, Wetendorf JJ, Heibert SW.** Transcriptional regulation during myelopoiesis. *Mol Biol Rep* 1997;24:157-168.
  51. **Kitabayashi I, Yokoyama A, Shimizu K, Ohki M.** Interaction and functional cooperation of the leukemia-associated factors AML1 and p300 in myeloid cell differentiation. *EMBO J* 1998;17:2994-3004.
  52. **Lutterbach B, Westendorf JJ, Linggi B, Paten A, Moniwa M, Davie JR, Huynh KD, Bardwell VJ, Lavinsky RM, Rosenfeld MG, Glass C, Seto E, Heibert SW.** ETO, a target of t(8;21) in acute leukemia, interacts with the NCoR and mSin3 co-repressors. *Mol Cell Biol* 1998;18: 7176-7184.
  53. **Gamou T, Kitamura E, Hosoda F, Shimizu K, Shinohara K, Hayashi Y, Nagase T, Yokoyama Y, Ohki M.** The partner gene of AML1 in t(16;21) myeloid malignancies is a novel member of the MTG8(ETO) family. *Blood* 1998;91:4028-4037.
  54. **Nucifora G, Rowley JD.** AML1 and the 8;21 and 3;21 translocations in acute and chronic myeloid leukemia. *Blood* 1995;86:1-14.
  55. **Morrow CS, Cowan KH.** Mechanisms of antineoplastic drug resistance. In: De Vita VT Jr, Hellmann S, Rosenberg SA editors. *Cancer principles and practice of oncology* 4<sup>th</sup> ed. JB Lippincott Co. 4th edition. Philadelphia, PA, USA: 1993. p. 340-348.
  56. **Zwiebel JA.** New agents for acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 2000;14:488-490.
  57. **Kim GD, Choi YH, Dimtchev A, Jeong SJ, Dritschilo A, Jung M.** Sensing of ionizing radiation-induced DNA damage by ATM through interaction with histone deacetylase. *J Biol Chem* 1999;274:31127-31130.
  58. **Wang CH, Fu M, Mani S, Wadler S, Senderowicz AM, Pestell RG.** Histone acetylation and the cell cycle in cancer. *Front Biosci* 2001;6:d610-d629.
  59. **Archer SY, Hodin RA.** Histone acetylation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 1999;9:171-174.