

PARTICIPACIÓN DE LAS BOMBAS DE CALCIO DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN EL CÁNCER*

Lucía Flores Peredo, Gabriela Rodríguez y Ángel Zarain Herzberg

Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM, México D.F.

Correo E: zarain@unam.mx

RESUMEN

El ión calcio (Ca^{2+}) es un segundo mensajero que regula diferentes procesos como son la diferenciación, el crecimiento y la muerte celular, por lo cual la desregulación en el manejo de Ca^{2+} intracelular influye de forma importante en el desarrollo de procesos neoplásicos. Las ATPasas de Ca^{2+} del retículo sarco/endoplásmico (SERCA) son fundamentales para mantener la homeostasis intracelular de Ca^{2+} al bombear Ca^{2+} dentro de los retículos sarcoplásmico y endoplásmico. Recientemente se han reportado alteraciones en la expresión de las bombas SERCA en diferentes tipos de cáncer en: boca, pulmón, colon, estómago, sistema nervioso central, tiroides, mama y próstata. Dichas alteraciones correlacionan con el grado histológico de los tumores, indicando su utilidad como marcadores del pronóstico y evolución de la enfermedad. Entre las causas de la desregulación en la expresión de las bombas SERCA se han encontrado mutaciones puntuales, hipermetilación del promotor, así como la alteración de vías de señalización dependientes de calcio.

PALABRAS

CLAVE:

SERCA, calcio, cáncer, diferenciación celular.

ABSTRACT

The calcium ion (Ca^{2+}) is a second messenger that regulates different processes such as differentiation, growth and cell death, by which Ca^{2+} handling deregulation influences significantly the development of neoplastic processes. The Ca^{2+} -ATPases from the sarco/endoplasmic reticulum (SERCA) are fundamental for maintaining intracellular Ca^{2+} homeostasis by pumping Ca^{2+} into the sarcoplasmic and endoplasmic reticulum. Recently, have been reported alterations in the expression of SERCA pumps in different types of cancer: mouth, lung, colon, stomach, central nervous system, thyroid, breast, and prostate. These changes correlated with the histological grade of tumors, indicating its usefulness as markers of prognosis and evolution of the disease. Among the causes of the deregulation of the expression of the SERCA pumps are point mutations, hypermethylation of the promoter, as well as alteration of calcium signaling pathways.

KEY WORDS:

SERCA pump, calcium, cancer, cellular differentiation.

INTRODUCCIÓN

El ión calcio (Ca^{2+}) funciona como segundo mensajero en diversos procesos celulares como son la contracción muscular, la diferenciación, la proliferación, la apoptosis, el estrés oxidativo; así como la síntesis, procesamiento y plegamiento de proteínas. Su participación en procesos tan diversos, se da a través de gradientes de concentración del catión entre los diferentes compartimentos celulares. En células en reposo, la concentración

de Ca^{2+} libre en el citoplasma ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) se mantiene aproximadamente entre 100-200 nM, pero se puede incrementar hasta más de 1 μM a través de la movilización de Ca^{2+} desde los reservorios intracelulares como son el retículo endoplásmico (RE), el retículo sarcoplásmico (en células musculares), el aparato de Golgi, las mitocondrias y los lisosomas, o por la entrada de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática desde el medio extracelular (1). El aumento en la concentración de Ca^{2+} así como la duración de dicho estímulo constituye la señal

*Aceptado: diciembre de 2013

para diversos procesos como son la proliferación, diferenciación y muerte celular. De tal forma, la función normal de las células exige un sistema de proteínas que se encarguen de retornar la $[Ca^{2+}]$ a niveles basales una vez pasado el estímulo, por lo tanto, la alteración en la homeostasis de Ca^{2+} incide en procesos celulares relevantes en el desarrollo de tumores.

LAS BOMBAS DE CALCIO SERCA

El RE es el reservorio más importante de Ca^{2+} dentro de la célula. La función de la ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarco/endoplásmico (SERCA por sus siglas en inglés, "Sarco/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase") es mantener concentraciones bajas de este catión en el citoplasma de todas las células. Las bombas SERCA son enzimas que acoplan la hidrólisis de una molécula de ATP para realizar el transporte activo de dos iones de Ca^{2+} hacia el interior del RE. Estas bombas muestran un alto grado de conservación entre especies, en humanos las isoformas de SERCA son codificadas por tres genes: *ATP2A1*, *ATP2A2* y *ATP2A3*, cada uno de los cuales da origen a diferentes isoformas de la proteína (SERCA1a y b; SERCA2a-c; SERCA3a-f, respectivamente) como resultado del empalme alternativo del RNAm y cuya expresión se modula de forma tejido específica y dependiendo del estadio del desarrollo (2). Las isoformas SERCA1a y SERCA1b se expresan exclusivamente en músculo esquelético de contracción rápida. La isoforma SERCA2a se expresa principalmente en cardiomiocitos y en músculo esquelético de contracción lenta, mientras que la isoforma SERCA2b tiene expresión ubicua. Las isoformas SERCA3a-f se expresan tanto en células musculares y no musculares, mostrando abundante expresión en células epiteliales, endoteliales, del sistema hematopoyético así como en el sistema nervioso central (SNC).

Las bombas SERCA son mediadores esenciales de las vías de señalización por Ca^{2+} tanto en células excitables como en no excitables. La entrada de Ca^{2+} desde el espacio extracelular activa la liberación del mismo desde el RE, el incremento en la $[Ca^{2+}]_c$ resulta en la activación de vías de señalización celular. Las bombas SERCA restituyen la dinámica del almacén de Ca^{2+} al retornarlo al RE, manteniendo así concentraciones bajas de éste catión en el citoplasma de las células tras la estimulación celular.

La inhibición directa de la actividad de las bombas SERCA ha demostrado que puede conducir a diferentes fenotipos, conforme al tipo celular en el que se inhiba su actividad, por ejemplo, induce la proliferación celular independiente de factor

de crecimiento, induce la activación de linfocitos, promueve un incremento en la producción de partículas virales de VIH, lleva a estrés del RE (vía que conduce a muerte celular programada o apoptosis a causa del vaciado del reservorio), induce el arresto del crecimiento o bien la diferenciación celular (3-5).

PARTICIPACIÓN DE LAS BOMBAS SERCA EN EL CÁNCER

Se han reportado mutaciones de las bombas de calcio SERCA en varios tipos de tumores cancerosos. En particular, se han identificado mutaciones en los genes *ATP2A2* y *ATP2A3*, así como disminución en la expresión de las proteínas SERCA2 y SERCA3 que codifican estos genes, por lo que se ha propuesto una participación importante de las bombas de calcio SERCA en la promoción y mantenimiento de distintas neoplasias como cáncer de colon, estómago, cavidad oral, SNC, tiroides, próstata, mama y posiblemente de otras células malignas (6-11).

En 2004, el análisis de mutaciones en el gen *ATP2A2* en muestras de 52 pacientes con cáncer oral, en 32 pacientes con lesiones pre malignas del mismo tipo celular y de 8 líneas celulares derivadas de éste tipo de cáncer, se identificó solamente una delección de 12 pares de bases en una de las líneas celulares, la cual condujo a un desfase en el marco de lectura a partir del exón 14 de la secuencia codificante, afectando al dominio de unión del ATP de la enzima. El análisis de los niveles de expresión del RNAm y proteína de SERCA2, identificó una disminución significativa entre los pacientes con cáncer. Los autores identificaron hipermetilación de la región promotora del gen *ATP2A2*, en aquellas muestras con baja expresión del gen, restableciendo su expresión mediante tratamiento con 5-azacitidina, un agente desmetilante del DNA. En suma, los autores postularon la posible función de *ATP2A2* como gen supresor de tumores, donde la disminución en su expresión contribuye de forma temprana al desarrollo de cáncer oral (8).

Con el fin de establecer una correlación entre las alteraciones sobre el gen *ATP2A2* y el desarrollo de cáncer, en 2006, el grupo de Korosec (12) estudió la frecuencia de mutaciones en éste gen en muestras de 208 pacientes eslovenos con cáncer de colon y pulmón. Se detectaron mutaciones en 9.6% de los pacientes, y además 5 de ellos tuvieron más de una mutación en el gen *ATP2A2*. Se reportaron 13 mutaciones diferentes: 2 de sentido equivocado (sustitución de una base nitrogenada en el DNA que origina un nuevo triplete que codifica un nuevo aminoácido),

2 deleciones en regiones intrónicas, 1 inserción en un intrón, 8 mutaciones puntuales (2 de ellas en región codificante), 3 en intrones y 3 en el promotor del gen. De las 13 diferentes alteraciones reportadas, solo 2 causaron un cambio en la secuencia de aminoácidos del gen *ATP2A2*; 11 de las mutaciones se hallaron en línea germinal y solo 2 en células somáticas, éstas últimas en región codificante. Además, en el estudio se encontró disminución o ausencia de la expresión de la proteína SERCA2 en 9 muestras diferentes con alguna de las mutaciones reportadas, incluso aquellas que se encontraron en intrones. Los autores identificaron asociación entre la presencia de mutaciones y la disminución en la expresión de SERCA2, sin embargo, concluyen que dichas mutaciones no contribuyen en la susceptibilidad a desarrollar cáncer de colon o de pulmón (12).

En el 2008, el grupo de Korosec (13) amplía la búsqueda de mutaciones al gen *ATP2A3*, estableciendo que las mutaciones en ambos genes *ATP2A2* y *ATP2A3* aumentan la susceptibilidad a desarrollar carcinomas de células escamosas en cabeza y nuca (13). El análisis incluyó 79 pacientes con carcinomas y 124 donadores sanos. En el gen *ATP2A2* se encontraron 4 mutaciones puntuales: 2 en el promotor, 1 en el exón 13 y 1 en el intrón XIX. Tres de estas alteraciones se encontraron en línea germinal y 1 en células somáticas. Las mutaciones en el promotor *ATP2A2* corresponden con las reportadas previamente por el mismo grupo en pacientes con cáncer de colon, así como la del intrón XIX. Además, la mutación en el intrón XIX es común en familias con enfermedad de Darier, un trastorno genético de herencia autosómica dominante, que se caracteriza por una diferenciación anormal de la piel a causa de mutaciones en el gen *ATP2A2*. Ninguna de estas mutaciones modificó la secuencia de aminoácidos, pero las que afectaron la región promotora presentaron expresión reducida de RNAm del gen *ATP2A2*. En el gen *ATP2A3* se encontraron 4 mutaciones diferentes en 7 pacientes con cáncer de cabeza y nuca: 2 mutaciones diferentes de sentido equivocado en el exón 14 y 2 en los intrones III y XX.

La cuantificación de los niveles de expresión de RNAm para SERCA2b y SERCA3a-f, no mostró diferencia entre el tejido afectado y el normal del mismo paciente, pero la comparación entre los diferentes pacientes con o sin mutaciones en los genes *ATP2A2* y *ATP2A3*, identificó una disminución significativa solo en aquellos con mutaciones en el promotor del gen *ATP2A2*. El resultado anterior llevó a investigar si la disminución en la expresión correspondía a

la hipermetilación de los promotores de los genes *ATP2A2* y *ATP2A3*, sin embargo, no se encontraron cambios (13).

En 2009, el mismo grupo analizó la frecuencia de mutaciones en el gen *ATP2A3* en 275 muestras de pacientes con cáncer en colon, pulmón o en el SNC (14). Se identificaron 5 diferentes mutaciones, todas en línea germinal: 2 mutaciones de sentido equivocado en el exón 14; 2 mutaciones silenciosas (sustitución de una base nitrogenada sin cambio en el aminoácido que codifica el triplete) en los exones 14 y 22; 1 en el intrón VI y ninguna en el grupo control. La frecuencia de mutaciones en los pacientes por tipo de neoplasia fue: 6.2% en cáncer de colon, 7.8% en SNC y 7.3% en cáncer de pulmón. La mayoría de las mutaciones se encontraron en el exón 14, 15 de las 19 mutaciones detectadas, que además corresponden con el dominio de fosforilación de la bomba SERCA3. También se identificaron 13 diferentes polimorfismos, pero su frecuencia no difiere con los individuos control. Los niveles de expresión de RNAm del gen *ATP2A3* no varían significativamente entre tejidos con cáncer y su contraparte no afectada, ni entre individuos. De los pacientes con alguna mutación sólo se determinó el nivel de expresión en 2 de ellos, en la correspondiente a una mutación en el intrón VI se encontró reducción en la expresión tanto de RNAm como de proteína, que los autores atribuyen a que dicha mutación altera el corte y empalme del RNAm. El análisis del estado de metilación del promotor del gen *ATP2A3* no reveló ningún cambio entre los pacientes con los diferentes tipos cáncer. Los autores concluyen que la ausencia de mutaciones somáticas sobre el gen *ATP2A3* indica que éste gen no funciona como supresor tumoral pero que la expresión incompleta del mismo, es suficiente para modificar el ambiente celular y tisular que predispone al desarrollo del cáncer. Además, estos estudios sugieren que las mutaciones en los genes que codifican las bombas SERCA constituyen eventos tempranos en el proceso carcinogénico.

La expresión selectiva de las diferentes isoformas SERCA en las células, aunados con la regulación alterada en la $[\text{Ca}^{2+}]_c$ producto de las mutaciones o de la disminución en su expresión identificadas en diferentes neoplasias, puede favorecer la proliferación y/o mecanismos adaptativos para la supervivencia y resistencia a la apoptosis, promoviendo o sosteniendo el desarrollo de cáncer. Las alteraciones de las bombas SERCA encontradas en los diferentes tipos de cáncer se resumen en la Tabla 1.

La evidencia directa entre la deficiencia de la

TABLA I

Resumen de las alteraciones reportadas en diferentes tipos de neoplasias sobre las bombas de calcio SERCA2 y SERCA3, así como en los genes *ATP2A2* y *ATP2A3* que las codifican.

Tipo de Cáncer	Isoforma alterada	Hallazgo	Tipo de muestra analizado	Efecto de la alteración
Oral	SERCA 2 ↓	Mutaciones y metilación del promotor	Muestras de pacientes y líneas celulares	Evento temprano en el desarrollo de las neoplasias
Carcinoma de células escamosas	SERCA 2 ↓	Ratón transgénico <i>Atp2a2</i> ^{+/-}	Carcinomas: lengua, mucosa, oral, esófago, estómago, pene, ano, vagina	Haploinsuficiencia de SERCA2 suficiente para favorecer el desarrollo de tumores
Tiroides	SERCA 2 ↓	En tejido normal expresión abundante	Líneas celulares y tejido normal de rata	Aumenta el potencial maligno
Mama	SERCA 3 ↓	Disminución de la expresión desde lesiones precancerosas	Muestras de pacientes: lesiones precancerosas y con diferentes grados de malignidad	Marcador temprano de transformación y grado de malignidad
Leucemia granulocítica crónica	SERCA 3 ↓	Diferenciación <i>in vitro</i> con AR aumentan su expresión	Líneas celulares y células aisladas de pacientes	Marcador de la diferenciación mieloide
Pulmón	SERCA 3 ↓	Diferenciación <i>in vitro</i> con SCFAs aumentan su expresión	Muestras de pacientes y líneas celulares	Marcador histoquímico de grado de malignidad. Homeostasis alterada de Ca ²⁺ que promueve la progresión del tumor
Colon, pulmón y SNC	SERCA 2 ↓ o ausente SERCA 3 o normal	Diferentes mutaciones puntuales en línea germinal en ambos genes: <i>ATP2A2</i> y <i>ATP2A3</i>	Muestras de pacientes	La haploinsuficiencia en la expresión de SERCA aumenta la susceptibilidad al desarrollo de cáncer
Colon y estómago	SERCA 3 ↓ o ausente	Diferenciación <i>in vitro</i> con SCFAs aumentan su expresión	Muestras de pacientes y líneas celulares	Marcador histoquímico de grado de malignidad y de estado de diferenciación
Prostata	SERCA 2b ↑	Tratamiento con prolactina disminuye su expresión	Línea de epitelio normal de prostata	Favorece la proliferación

expresión y/o función de las bombas SERCA y la formación de tumores se observó en ratones viejos, heterocigotos para el gen *Atp2a2*. Los ratones heterocigotos (*Atp2a2*^{+/-}) de más de 53 semanas de edad, presentaron una alta incidencia de carcinomas de células escamosas (o epitelio plano) como resultado directo de la haploinsuficiencia (expresión de un solo alelo) del gen *Atp2a2*^{+/-}, que resulta en una disminución en la abundancia de la isoforma SERCA2b (15).

En el ratón, también se ha visto que la tapsigargina, un inhibidor de origen natural irreversible, muy potente y altamente específico de la actividad de la bomba SERCA ya que promueve el desarrollo de tumores con diferentes grados de malignidad sobre la piel del roedor, que correlaciona con el

crecimiento de queratinocitos en cultivo favorecido por tapsigargina (13). Sin embargo, no es claro si estos efectos son por la inhibición parcial de la bomba SERCA2, simulando haploinsuficiencia o a su inhibición completa por el fármaco.

Por otro lado, la expresión de SERCA3 es muy abundante en mucosas y epitelios, sin embargo, se ha visto que disminuye drásticamente hasta incluso hacerse indetectable en carcinomas de mama, colon y mucosa gástrica, estos hallazgos se reportaron tanto en muestras de pacientes como en diferentes líneas celulares (9, 11).

La disminución en la expresión de SERCA2 en líneas tumorales de tiroides y de SERCA3 en líneas de cáncer gástrico y de colon se han asociado principalmente con pérdida de la diferenciación de las

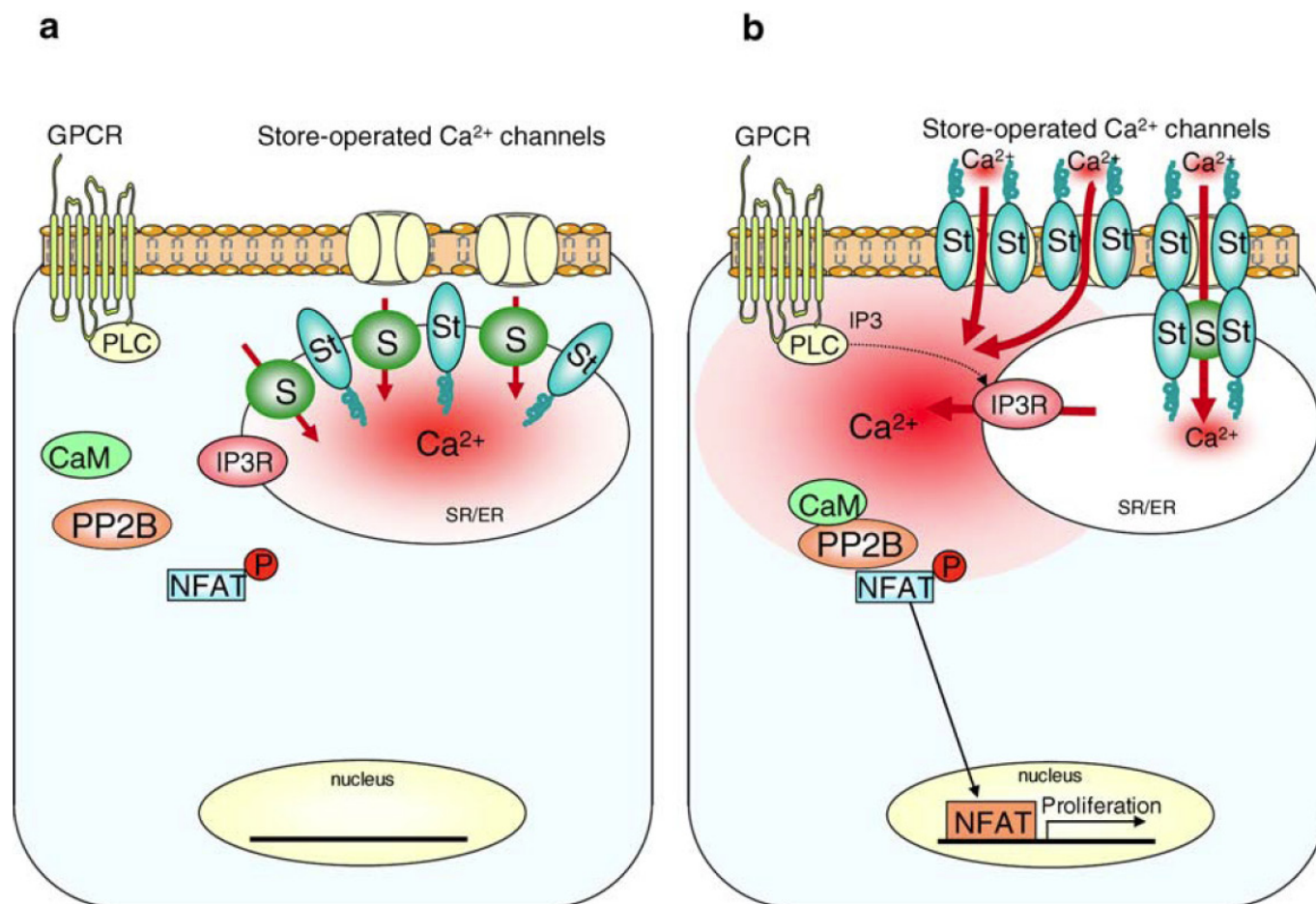


Figura 1. Vía de señalización activada por calcio que regula la proliferación en diferentes tipos celulares. A) Células quiescentes y B) en proliferación. CaM, calmodulina; GPCR, receptor acoplado a proteína G; PLC, fosfolipasa C; PP2B, proteína fosfatasa 2B, también conocida como calcineurina; NFAT, factor nuclear de linfocitos T activados; P, fosfatasa; IP3R, receptor de inositol-1,4,5-trifosfato; S, SERCA (bomba ATPasa de Ca^{2+} del retículo sarco/endoplásmico); SR/ER, retículo sarco/endoplásmico; St, STIM1 (molécula 1 de interacción con el estroma). Tomado de (16).

células cancerosas más que con la transformación neoplásica *per se* (9, 10). También hay evidencia de que la pérdida de la actividad de SERCA y el consecuente vaciado de los depósitos intracelulares induce proliferación en diferentes tipos celulares tanto normales como neoplásicos. La entrada de Ca^{2+} mediante la apertura de canales sensibles al mismo, conducen a la activación del factor de transcripción NFAT (por sus siglas en inglés "Nuclear Factor of Activated T-cells"), cuyos genes blanco conducen a la proliferación y angiogénesis que es la formación de nuevos vasos sanguíneos, relacionados con la diseminación de tumores por el cuerpo (16).

Se propone que la activación de la vía Ca^{2+} /calcineurina/NFAT lleva a un aumento en la proliferación celular a través de un mecanismo que involucra la pérdida o disminución de la actividad de las bombas SERCA y el consecuente vaciado del RE, lo cual activa la entrada de Ca^{2+} desde el espacio

extracelular. La apertura de canales sensibles a Ca^{2+} (SOC, por sus siglas en inglés "Store-Operated Calcium Channels") incrementa la $[\text{Ca}^{2+}]$ intracelular, el cual es detectado por la calmodulina quien a su vez activa a la calcineurina, la cual es una proteína fosfatasa que desfosforila al factor de transcripción NFAT. La translocación de NFAT desfosforilado al núcleo, promueve la expresión de genes específicos relacionados con la proliferación de diversos tipos celulares normales y neoplásicos como por ejemplo ciclinas, c-Fos y c-Jun (ver Figura 1).

El grupo de Crepin (7), reportó que el tratamiento de células inmortalizadas de epitelio normal de próstata, PNT1A, con la hormona prolactina, lleva a un incremento en su tasa de proliferación, un aumento en la expresión de la bomba SERCA2b así como de la $[\text{Ca}^{2+}]$ dentro del RE. El silenciamiento de la expresión de SERCA2b mediante RNAsi (RNA pequeño interferente) produjo una disminución en

la proliferación celular de PNT1A tratadas con prolactina. Por lo tanto, la expresión de SERCA2b y la regulación que ejerce sobre la $[Ca^{2+}]_c$ modulan la proliferación de éstas células (7).

Las bombas SERCA también desempeñan un papel esencial en la síntesis, plegamiento, transporte y secreción de proteínas. La acumulación de proteínas mal plegadas en el RE conduce a la respuesta conocida como estrés del RE el cual lleva al vaciamiento de Ca^{2+} del RE y constituye una señal para la apoptosis. También se ha reportado que la proteína antiapoptótica BCL-2 ejerce su función reduciendo la $[Ca^{2+}]$ del RE por inhibición de la bomba SERCA2 (2, 16).

DIFERENCIACIÓN CELULAR E INDUCCIÓN DE LA EXPRESIÓN DE SERCA3

La expresión de SERCA3 es muy abundante en epitelios, mucosas y en células del linaje hematopoyético, pero además se reporta que su expresión varía a través de los estadios normales de diferenciación. El análisis mediante inmunohistoquímica de biopsias de colon normal mostró la expresión diferencial de SERCA3 a través de las criptas del colon, encontrando menor expresión de SERCA3 en las células madre que ocupan el fondo de la cripta, la cual se va incrementando conforme las células avanzan su grado de diferenciación a lo largo del eje de la cripta hasta llegar a la superficie de la misma donde su expresión es máxima (9).

La pérdida de la diferenciación por la que se caracterizan las células neoplásicas correlaciona con la poca o nula expresión de SERCA3 que se ha encontrado en cáncer de colon, estómago y células leucémicas. Las observaciones anteriores sugieren que la disminución en la expresión de SERCA3 es un evento temprano en el proceso carcinogénico, por lo que podría resultar de utilidad como marcador diagnóstico de varios tipos de cáncer (17).

Por otra parte, la disminución en la expresión de SERCA3 que se encontró en muestras de pacientes y líneas celulares de cáncer de colon y estómago se acentúa conforme aumenta el grado histológico de los tumores, el cual hace referencia a su estado de diferenciación (9). Por lo tanto, el determinar el nivel de expresión de SERCA3 puede ser útil en la clasificación de los tumores e incluso incidir en el pronóstico del paciente según la abundancia en la expresión de ésta proteína.

Experimentos de diferenciación *in vitro* con células tumorales del epitelio intestinal, tratadas con ácidos grasos de cadena corta (SCFAs, por sus siglas en inglés "Small Chain Fatty Acids") como el butirato, mostraron que inducen la expresión de la proteína SERCA3. El butirato, es un producto

natural de la degradación de las fibras de la dieta por las bacterias del intestino, ha sido ampliamente utilizado *in vitro* como inductor de la diferenciación, es uno de los SCFAs más abundantes que se encuentran de forma fisiológica en el lumen del intestino, donde además es la principal fuente de energía para los colonocitos. El incremento en la expresión de SERCA3 es específico ya que la proteína SERCA2b no se altera o disminuye parcialmente tras la diferenciación (9).

El butirato produce cambios morfológicos y bioquímicos, los cuales son reversibles una vez que se remueve del medio de cultivo. El butirato ejerce su efecto a través de la activación de genes específicos, inhibe la actividad de las HDAC (por sus siglas en inglés "Histone Deacetylases"), con lo que la cromatina se relaja y facilita la unión de factores de transcripción sobre el promotor de sus genes blanco para su transcripción. Sin embargo, el perfil de los cambios en la expresión génica después del tratamiento con butirato es heterogéneo. Hay aumento en la expresión de genes de mucina, de proteínas de uniones estrechas y del transportador de monocarboxilatos (MCT1), cada uno relacionado con la formación de un epitelio funcional. Aunque hay aumento en la expresión de genes íntimamente ligados con la proliferación como el oncogen *c-Fos* y la ciclina D3, también se reporta disminución en la expresión del oncogen *c-Myc*, así como de otros genes relacionados con estrés oxidativo como los de la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa. En adición, el butirato previene la activación de genes pro-inflamatorios ya que se ha observado que el tratamiento inhibe la translocación al núcleo del factor de transcripción NF- κ B.

De forma general, el butirato induce la expresión de marcadores de diferenciación celular como la de isoenzimas intestinales, por ejemplo: fosfatasa alcalina, dipeptidil peptidasa IV, sacarasa, isomaltasa y lactasa. En el análisis de expresión de microarreglos de RNAm de individuos sanos tratados con butirato, se han identificado alrededor de 500 genes modulados diferencialmente, en general se ha encontrado activación transcripcional de vías de oxidación de ácidos grasos, cadena transportadora de electrones, estrés oxidativo y apoptosis, así como de genes relacionados con la integridad de los epitelios (18).

El butirato induce el arresto del ciclo celular de forma dependiente de la proteína reguladora p21, promoviendo la diferenciación y finalmente apoptosis. El mecanismo por el cual induce la apoptosis en células epiteliales se relaciona con la expresión de proteínas de la vía del proteasoma e hipofosforilación de la proteína retinoblastoma (Rb) en presencia de butirato. Como parte del mecanismo

de inducción de la diferenciación por butirato, la inhibición de HDAC's es un componente clave, ya que el tratamiento con inhibidores específicos como la tricostatina A, apicidina o vorinostat, también conducen al aumento en la expresión de la bomba SERCA3 (9).

La disminución de la expresión de la bomba SERCA3 en cáncer de colon también se ha relacionado con alteración en la vía de señalización Wnt (por sus siglas en inglés "Wingless"). La inhibición de la vía Wnt/ β -catenina/TCF-4 con una dominante negativa de TCF-4 conduce a la inducción de la expresión de SERCA3 en células de cáncer de colon, demostrando que su expresión está regulada negativamente por la vía Wnt (17).

En los epitelios intestinales existe expresión concomitante de las isoformas de SERCA3 y SERCA2b, sin embargo, cada isoforma posee distinta afinidad por Ca^{2+} , SERCA2b tiene 10 veces mayor afinidad ($K_{0.5}$ de 0.13 μM) que las isoformas de SERCA3 ($K_{0.5}$ de 1.4 μM). A pesar de la baja afinidad por Ca^{2+} de las bombas SERCA3, la velocidad con que hidrolizan ATP es 4 veces mayor al de la isoforma SERCA2b y por lo tanto transportan Ca^{2+} más rápido desde el citoplasma hacia el interior del RE (19, 20).

Se ha propuesto que cada isoforma SERCA maneja las reservas de calcio de forma distinta, SERCA3 se le asocia específicamente con la señalización de Ca^{2+} activada por la liberación del fosfolípido inositol-1,4,5-trifosfato (IP_3), y la consecuente apertura de los canales de liberación de Ca^{2+} localizados

en la membrana del RE sensibles a este compuesto. En tanto SERCA2b, está relacionada con la cascada de señalización que involucra las funciones constitutivas del RE como síntesis, plegamiento y maduración de proteínas (3).

Se propone que el aumento en la expresión de SERCA3 tras la diferenciación celular implicaría un manejo en la $[\text{Ca}^{2+}]$ por ésta bomba desfavorable para la proliferación celular, promoviendo la diferenciación y por último, la muerte de las células cancerosas. De forma específica, el incremento en la expresión de SERCA3, observado en los modelos de diferenciación con células mieloides y células cancerosas del epitelio intestinal, conduce a un incremento sostenido en la $[\text{Ca}^{2+}]_c$, al disminuir su recaptura tras un estímulo celular, debido a la baja afinidad por Ca^{2+} de SERCA3 (9). Los incrementos en la $[\text{Ca}^{2+}]_c$ son fundamentales para iniciar un programa normal de diferenciación (2, 16).

Por lo tanto, entender los mecanismos que llevan al aumento de la $[\text{Ca}^{2+}]_c$ pueden resultar útiles en la prevención y/o planeación de un tratamiento para neoplasias de origen epitelial así como de células leucémicas con pérdida de la diferenciación. Sin embargo, hay que considerar que la adquisición de un fenotipo más diferenciado no implica necesariamente la pérdida del fenotipo maligno del tumor, por lo que el diseño de una terapia efectiva debe tener como objetivo la muerte de las células transformadas. 

REFERENCIAS

1. Monteith GR, McAndrew D, Faddy HM, Roberts-Thomson SJ (2007) Calcium and cancer: targeting Ca^{2+} transport. *Nat Rev Cancer* 7: 519-530.
2. Brini M, Carafoli E (2009) Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev* 89: 1341-1378.
3. Papp B, Brouland JP, Gelebart P, Kovacs T, Chomienne C (2004) Endoplasmic reticulum calcium transport ATPase expression during differentiation of colon cancer and leukaemia cells. *Biochem Biophys Res Commun* 322: 1223-1236.
4. Launay S, Gianni M, Diomedea L, Machesky LM, Enouf J, Papp B (2003) Enhancement of ATRA-induced cell differentiation by inhibition of calcium accumulation into the endoplasmic reticulum: cross-talk between RAR alpha and calcium-dependent signaling. *Blood* 101:3220-3228.
5. Launay S, Gianni M, Kovacs T, Bredoux R, Bruel A, Gelebart P, Zassadowski F, Chomienne C, Enouf J, Papp B (1999) Lineage-specific modulation of calcium pump expression during myeloid differentiation. *Blood* 93: 4395-4405.
6. Arbabian A, Brouland JP, Apati A, Paszty K, Hegedus L, Enyedi A, Chomienne C, Papp B (2012) Modulation of endoplasmic reticulum calcium pump expression during lung cancer cell differentiation. *FEBS J*:1-11.
7. Crepin A, Bidaux G, Vanden-Abee F, Dewailly E, Goffin V, Prevarskaya N, Slomianny C (2007) Prolactin stimulates prostate cell proliferation by increasing endoplasmic reticulum content due to SERCA 2b over-expression. *Biochem J* 401:49-55.
8. Endo Y, Uzawa K, Mochida Y, Shiiba M, Bukawa H, Yokoe H, Tanzawa H (2004)

- Sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase type 2 downregulated in human oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 110:225-231.
9. Gelebart P, Kovacs T, Brouland JP, van Gorp R, Grossmann J, Rivard N, Panis Y, Martin V, Bredoux R, Enouf J, Papp B (2002) Expression of endomembrane calcium pumps in colon and gastric cancer cells. Induction of SERCA3 expression during differentiation. *J Biol Chem* 277:26310-26320.
 10. Pacifico F, Ulianich L, De Micheli S, Treglia S, Leonardi A, Vito P, Formisano S, Consiglio E, Di Jeso B (2003) The expression of the sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases in thyroid and its down-regulation following neoplastic transformation. *J Mol Endocrinol* 30:399-409.
 11. Papp B, Brouland JP (2011) Altered Endoplasmic Reticulum Calcium Pump Expression during Breast Tumorigenesis. *Breast Cancer (Auckl)* 5:163-174.
 12. Korosec B, Glavac D, Rott T, Ravnik-Glavac M (2006) Alterations in the ATP2A2 gene in correlation with colon and lung cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 171:105-111.
 13. Korosec B, Glavac D, Volavsek M, Ravnik-Glavac M (2008) Alterations in genes encoding sarcoplasmic-endoplasmic reticulum Ca^{2+} pumps in association with head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 181:112-118.
 14. Korosec B, Glavac D, Volavsek M, Ravnik-Glavac M (2009) ATP2A3 gene is involved in cancer susceptibility. *Cancer Genet Cytogenet* 188:88-94.
 15. Liu LH, Boivin GP, Prasad V, Periasamy M, Shull GE (2001) Squamous cell tumors in mice heterozygous for a null allele of Atp2a2, encoding the sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase isoform 2 Ca^{2+} pump. *J Biol Chem* 276:26737-26740.
 16. Lipskaia L, Hulot JS, Lompre AM (2007) Role of sarco/endoplasmic reticulum calcium content and calcium ATPase activity in the control of cell growth and proliferation. *Pflugers Arch* 457:673-685.
 17. Brouland JP, Gelebart P, Kovacs T, Enouf J, Grossmann J, Papp B (2005) The loss of sarco/endoplasmic reticulum calcium transport ATPase 3 expression is an early event during the multistep process of colon carcinogenesis. *Am J Pathol* 167:233-242.
 18. Vanhoutvin SA, Troost FJ, Hamer HM, Lindsey PJ, Koek GH, Jonkers DM, Kodde A, Venema K, Brummer RJ (2009) Butyrate-induced transcriptional changes in human colonic mucosa. *PLoS One* 4:e6759.
 19. Dode L, Andersen JP, Leslie N, Dhitavat J, Vilsen B, Hovnanian A (2003) Dissection of the functional differences between sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) 1 and 2 isoforms and characterization of Darier disease (SERCA2) mutants by steady-state and transient kinetic analyses. *J Biol Chem* 278:47877-47889.
 20. Dode L, Vilsen B, Van Baelen K, Wuytack F, Clausen JD, Andersen JP (2002) Dissection of the functional differences between sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) 1 and 3 isoforms by steady-state and transient kinetic analyses. *J Biol Chem* 277:45579-45591.