



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: TERAPIA EPIGENÉTICA EN EL
CÁNCER**

Autor: María Ortiz de Zárate Cuerva

Tutor: Mercedes Villacampa Sanz

Convocatoria: Junio 2018

Índice

1. Resumen	Página 3
2. Introducción y antecedente.....	Página 3
2.1.¿Qué es la epigenética?	Página 4
3. Objetivos.....	Página 4
4. Metodología.....	Página 5
5. Resultados y discusión	Página 5
5.1.ADN-metiltransferasas.....	Página 5
5.1.1.Inhibidores de ADN metiltransferasas.....	Página 6
5.2.Histonas desacetilasas (HDAC)	Página 8
5.2.1. Acetilación/desacetilación de las histonas.....	Página 8
5.2.2. Inhibidores de HDAC como tratamientos anticancerígenos.....	Página 9
a) Ácidos hidroxámicos.....	Página 9
b) Benzamidas.....	Página 10
c) Tioles.....	Página 11
d) Tetrapéptidos cíclicos.....	Página 12
e) Ácidos grasos de cadena corta.....	Página 13
5.3.Inhibidores de bromodominio.....	Página 13
5.3.1 Inhibidores BET.....	Página 14
5.3.2 Inhibidores no BET.....	Página 15
5.4.Inhibidores de histonas metiltransferasas.....	Página 16
5.5.Desmetilasas específicas de lisina.....	Página 17
5.6.Terapia combinada en el tratamiento del cáncer.....	Página 17
6. Conclusiones.....	Página 18
7. Bibliografía.....	Página 19

1. Resumen

Múltiples estudios evidencian que la desregulación epigenética está detrás del desarrollo y progreso de tumores. Estas modificaciones químicas han supuesto una nueva línea de investigación de dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer, además de tener aplicación en el diagnóstico de esta enfermedad como biomarcadores en el *screening* y pronóstico temprano de tumores. La metilación del ADN juega un papel esencial como biomarcador mediante la detección de las regiones hipermetiladas en las islas CpG, asociadas al silenciamiento de genes. A su vez, la modificación del grado de acetilación de las histonas supone la regulación anormal de la transcripción de ciertos genes. Estos dos mecanismos se encuentran estrechamente relacionados, puesto que se sabe que los promotores de genes supresores de tumores promueven el aumento del grado de metilación por las ADN metil-transferasas a la vez que la disminución del nivel de acetilación catalizado por las histonas desacetilasas, lo que conduce al “apagado” de genes. Por este motivo, estas dianas se han convertido en uno de los objetivos principales en la terapia contra el cáncer. Además, también existen otras terapias todavía en fase de estudio como las que están dirigidas hacia los bromodominios, capaces de detectar e interactuar con residuos de lisina acetilados, mecanismo implicado en múltiples procesos biológicos que pueden mediar la activación de un oncogen. Todos estos mecanismos juegan un papel esencial en la regulación de la expresión génica, de manera que las alteraciones que se produzcan repercutirán en dicho proceso, dando lugar a un resultado aberrante en la expresión de genes, que podrá desencadenar un proceso tumoral. El futuro de la terapia contra el cáncer radica en las terapias combinadas de fármacos, que a través de nuevas investigaciones han revelado una mayor eficacia que aquellas basadas en la monoterapia. Este trabajo ofrece una visión general sobre las alteraciones epigenéticas en relación al cáncer además de las distintas vías terapéuticas que tienen como dianas dichas alteraciones.

Palabras clave: epigenética, metilación, histonas, cromatina, bromodominio, terapia, cáncer.

2. Introducción y antecedente:

Una célula humana contiene alrededor de 2m de ADN que deben albergarse en el núcleo celular. Esto es posible gracias al grado de empaquetamiento del ADN en la cromatina. Nuestro material genético no se encuentra “desnudo”, sino que está empaquetado en el interior de la célula enrollado formando la cromatina. El nucleosoma constituye la unidad estructural de la cromatina, fue descrito por Roger Kornberg en 1974 y está compuesto por un octámero de cuatro tipos de histonas (H3, H4, H2A, H2B), proteínas muy básicas alrededor de las cuales se enrollan 147 pares de bases de DNA dando 1,65 vueltas. La estructura y modificaciones de la cromatina representan un nivel adicional de regulación para todos los procesos metabólicos del DNA incluidos transcripción, recombinación, reparación del

DNA, replicación, formación del centrómero, etc. actuando como una plataforma donde se integran las señales biológicas y tienen lugar las respuestas moleculares. Las modificaciones que afectan a cómo el material genético es empaquetado y utilizado, sin que cambie la secuencia del DNA, se denominan modificaciones epigenéticas, siendo las alteraciones en esta información las que darán lugar a la desregulación de la expresión genética, resultando en el desarrollo de diversas patologías, entre ellas el cáncer. Esta representa una de las enfermedades con mayor prevalencia en la sociedad actual y que además, irá en aumento debido a la mayor esperanza de vida que se espera para las generaciones futuras. Se trata de una enfermedad de origen multifactorial, que ocurre tras un daño en el ADN (origen genético) y/o en los mecanismos que regulan el ADN (origen epigenético), dando lugar a una proliferación no controlada del ciclo celular [1].

Actualmente se estima que más del 50% de los procesos tumorales tienen un origen epigenético, de ahí la importancia de la investigación de las modificaciones epigenéticas asociadas a cada tipo de cáncer para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas más específicas y con menos efectos adversos.

2.1. ¿Qué es la epigenética?

La epigenética es la disciplina que estudia las modificaciones químicas sobre el ADN o sobre proteínas asociadas (histonas), lo que, se va a traducir en cambios en la expresión genética que no se deben a alteraciones en la secuencia de nucleótidos –mutaciones-, si no que, en este caso, se deben al silenciamiento o activación de genes por factores que responden a la influencia del ambiente y en general al estilo de vida. De esta manera, el epigenoma consiste en el conjunto de modificaciones covalentes que se dan en los componentes de la cromatina, donde se incluye el ADN y proteínas. Estas modificaciones covalentes van a ser incorporadas por los “escritores” del ADN y serán reconocidas por los “lectores”, encargados de identificar dichas modificaciones, así como de modular la expresión génica de determinadas regiones del genoma. Además, podemos hablar de plasticidad del genoma, puesto que a su vez, también existen los llamados “borradores”, capaces de eliminar dichos marcadores covalentes[2,3].

3. Objetivos

El objetivo de este trabajo es el estudio bibliográfico de las diferentes terapias antitumorales que tienen como diana las alteraciones epigenéticas que alteran la expresión normal de los genes. El enfoque de este trabajo es desde un punto de vista químico, puesto que nos vamos a centrar en el papel de las moléculas y sus detalles a nivel estructural.

4. Metodología

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica actualizada de artículos procedentes de revistas científicas consultadas en distintas fuentes: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, Uptodate, OMS, SEEFH, SEOM, entre otras. A través de toda la información recopilada y de los objetivos planteados, se ha contrastado, seleccionado y organizado dicha información para la elaboración de este trabajo.

5. Resultados y discusión

En este apartado vamos a discutir sobre las modificaciones epigenéticas más estudiadas, las enzimas implicadas y los fármacos que existen.

5.1. ADN-metiltransferasas

El grado de metilación del ADN juega un papel esencial en la regulación de la expresión génica. Existen diversos factores que pueden alterar el nivel de metilación haciendo que este no sea el adecuado y favorecer así el desarrollo de enfermedades. La hipermetilación se asocia con el “apagado” de genes, lo que provoca el bloqueo del acceso de los factores de transcripción, y por lo tanto el silenciamiento de genes supresores de tumores. Mientras que la hipometilación se asocia con el “encendido” de genes, favoreciendo el restablecimiento del transcurso de la transcripción y de la expresión génica.

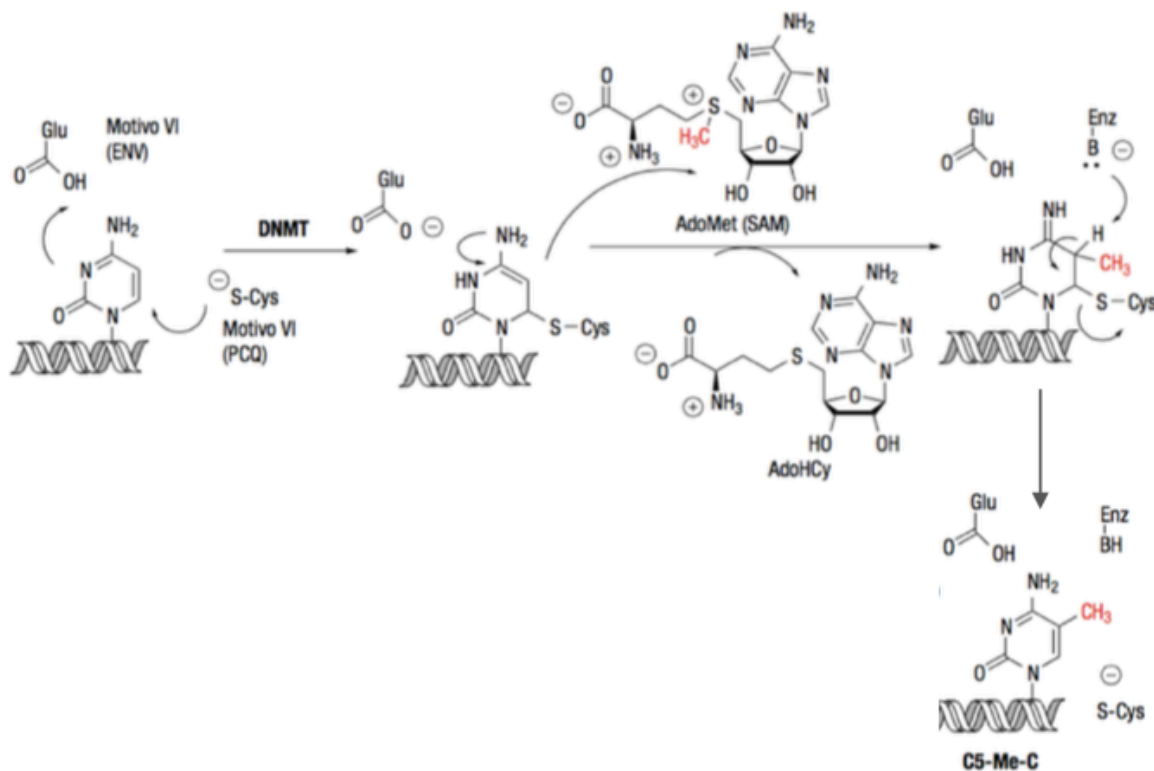


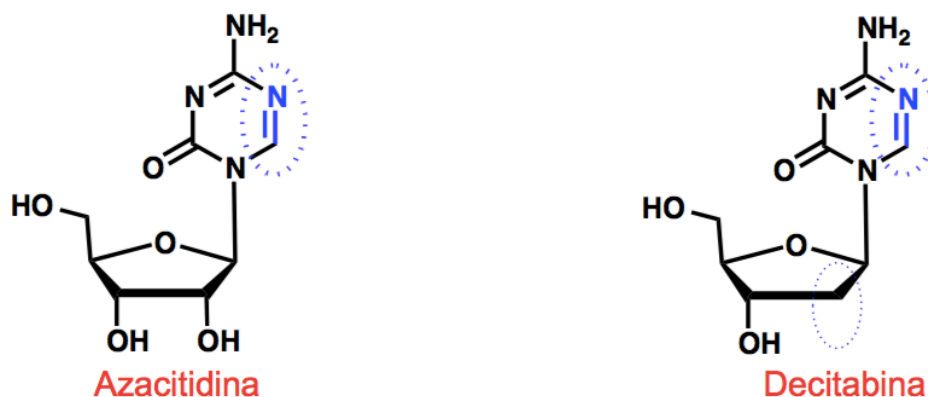
Figura 1: Mecanismo de acción de metilación en el C-5 de la citosina catalizado por la DNMT. [4]

El proceso de metilación es catalizado por el conjunto enzimático de las ADN-metiltransferasas (DNMT), enzimas que adicionan un grupo metilo donado por la S-adenosil metionina (SAM), en el carbono 5 del residuo de citosina de los dinucleótidos CpG del ADN (en islas de CpG), formando la 5-metilcitosina (5mC). El resultado es la represión transcripcional de la expresión génica, mediante el reclutamiento de proteínas represivas que conducen al silenciamiento de genes. El proceso de metilación se mantiene con normalidad durante el transcurso de la vida, sin embargo, pueden aparecer alteraciones que resulten en una inestabilidad genómica, dando lugar al silenciamiento de genes supresores de tumores, uno de los pasos claves en el desarrollo de cáncer. Por esto mismo, uno de los objetivos primordiales de la quimioterapia epigenética es la prevención de la hipermetilación del ADN.

5.1.1. Inhibidores de ADN-metiltransferasas (iDNMT)

El gen supresor de tumores p53 (GST), es uno de los principales genes en la regulación del ciclo celular y apoptosis. Este se encuentra silenciado en numerosos cánceres debido a la hipermetilación de la región promotora del gen, lo que supone un factor muy importante en la inactivación génica. Actúa previniendo la proliferación clonal de células con inestabilidad genética y la transformación neoplásica de estas, siendo capaz de inducir la apoptosis. Con el fin de evitar el silenciamiento de estos genes y restaurar la actividad de los GST, se desarrollaron inhibidores selectivos de las ADN-metiltransferasas.

Los iDNMT actúan como antimetabolitos a través de una inhibición irreversible, puesto que tras ser incorporados al ADN las bases fraudulentas quedan unidas por enlace covalente a la enzima, dejándola inactiva. Esto provoca el agotamiento de la enzima y por lo tanto, la hipometilación del ADN, reestableciendo así el equilibrio de expresión de los genes. Dentro de este grupo, encontramos la azacitidina (Vidaza®) y la decitabina (Dacogen®), ya comercializados, y también la guadecitabina, que en su caso está aún en fase III de ensayos clínicos [5].



La azacitidina y la decitabina son ambos profármacos que tras ser metabolizados por cinasas y ribonucleótido-reductasas, se obtienen sus formas activas desoxitriofosforiladas.

Son análogos de la citidina, que siguen el mecanismo de acción detallado en el Esquema 2. Tras la incorporación de la molécula al ADN, tiene lugar la activación del sustrato como imina protonada para que el C-6 actúe como electrófilo en el ataque nucleófilo del grupo sulfhidrilo de la enzima, que desplaza el par electrónico, favoreciendo el ataque desde la posición C-5 al grupo metilo del cofactor SAM (S-adenosil metionina). Este ataque se ve favorecido por la previa protonación de la posición 3, que activa el sustrato y permite que el C-5 actúe como nucleófilo y se produzca la metilación. Por tautomería en el caso de la citosina, se elimina el grupo tiol unido a la enzima, sin embargo, en los análogos, la presencia de la amina en 5 impide que se pueda llevar a cabo esta eliminación, puesto que no existe el protón que permite dicha eliminación. Por lo tanto, el sustrato queda permanentemente unido a la enzima, se trata entonces de un inhibidor que poco a poco irá agotando la reserva de enzimas, y por lo tanto disminuirá el grado de metilación del ADN.

En comparación con el sustrato natural (citosina), el nitrógeno en la posición C-5 de estos análogos, confiere al compuesto menor estabilidad química, por lo que facilita el ataque nucleófilo e impide la liberación de la enzima.

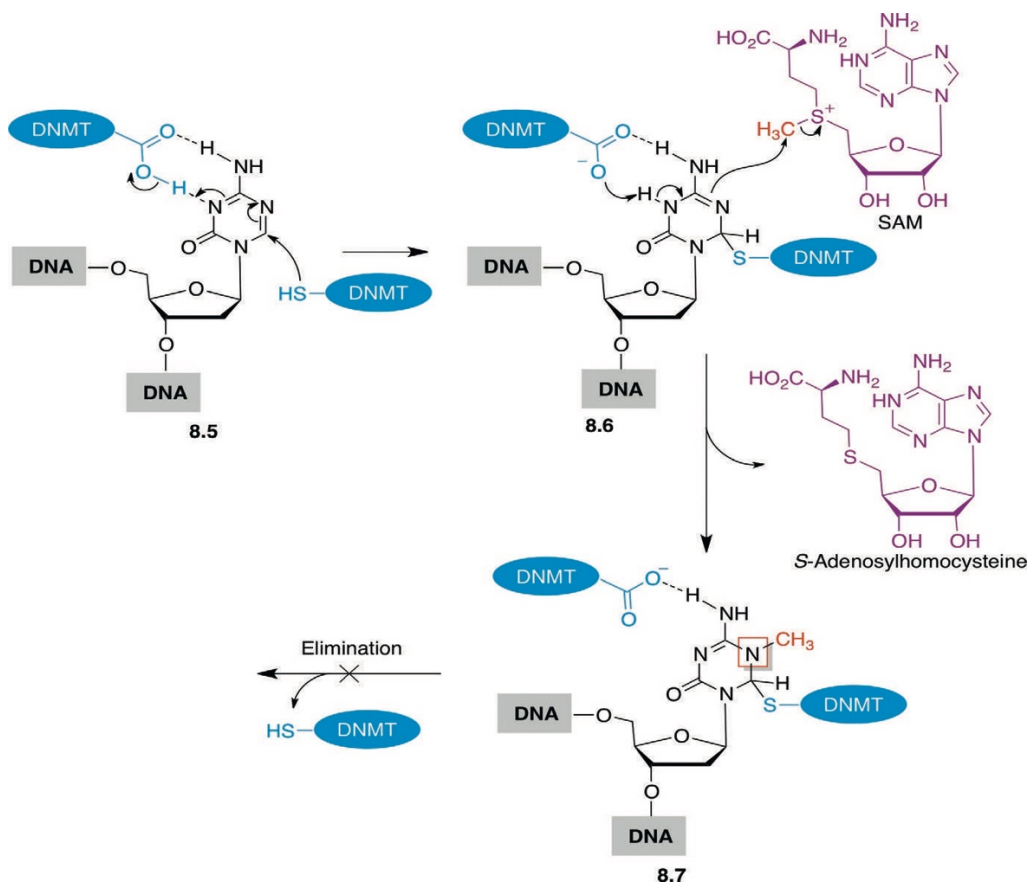


Figura 2: Mecanismo de acción de la Decitabina. [6]

Tanto la azacitidina como la decitabina, están aprobados por la FDA, EMEA y la AEMPS e indicados para el tratamiento de pacientes adultos que no se consideran candidatos a trasplante de células madre hematopoyéticas y que padecen síndromes mielodisplásicos (SMD). La azacitidina fue el primer medicamento aprobado por la FDA para el tratamiento de SMD, observándose que el 60% de los pacientes respondían correctamente al tratamiento, además de una mejora en la calidad de vida y estado físico, puesto que se mejoró el perfil hematológico, disminuyendo así la necesidad de transfusiones. En los estudios realizados sobre la decitabina, uno de cada tres pacientes respondían al tratamiento y parece beneficiar más aquellos casos en los que la enfermedad se encuentra ya avanzada.[7,8]

5.2. Histona desacetilasas (HDAC)

Las histonas son un conjunto de proteínas que asociadas al ADN forman la cromatina. La asociación histona-ADN se debe a que las histonas son ricas en residuos de aminoácidos básicos - fundamentalmente lisina-, que confieren a estas proteínas carga positiva (carácter básico), permitiendo así la atracción a través de fuerzas electrostáticas con los grupos fosfato del ADN (carga negativa). De esta forma, se mantienen unidos estructurando la cromatina [9].

5.2.1. Acetilación/desacetilación de las histonas

Estas proteínas juegan un papel muy importante en la regulación de la expresión génica en función del grado de acetilación que presenten. Las histonas son susceptibles de ser acetiladas por un conjunto de enzimas que reciben el nombre de histona acetiltransferasas (HAT), pero este mecanismo se puede revertir a su vez, por las histona desacetilasas (HDAC). La estructura de la cromatina controla la transcripción génica, puesto que cuando esta se encuentra de forma poco compacta –eucromatina- es cuando se facilita el acceso de los factores de transcripción y de la ADN polimerasa.

Los restos de lisina se encuentran en las colas N-terminales de las histonas, dispuestos hacia fuera, siendo estas las regiones susceptibles de ser acetiladas, variando así su carga y por lo tanto la interacción entre el ADN y las histonas. La acetilación de las lisinas por las HAT hace que se pierda la carga positiva necesaria para la interacción, lo que conduce a estructuras cromatínicas más abiertas que favorecen el proceso de transcripción génica. Sin embargo, las HDAC catalizan el proceso contrario, eliminando los restos acetilo de las lisinas en los extremos N-terminal. La desacetilación permite que la histona recupere su carga positiva, y por lo tanto se recupere la atracción electrostática con los grupos fosfatos del ADN. De esta forma estaríamos favoreciendo un grado de compactación mayor del ADN, bloqueando así el acceso de los factores de transcripción. Por tanto, se puede decir

que la hiperacetilación se asocia a un aumento de la actividad transcripcional, mientras que la hipoacetilación se asocia al bloqueo de la expresión genética [10].

Como hemos visto, el balance entre las actividades de las HAT y HDAC regula el estado de acetilación de las histonas, y por lo tanto, la expresión genética. Una alteración en la actividad de estas enzimas puede provocar la regulación anormal de la transcripción de ciertos genes, dando lugar a una de las características típicas de los cánceres humanos. Es frecuente encontrar en la mayoría de cánceres la desacetilación del residuo de lisina 16 de las histonas, sobre todo en las etapas tempranas de formación de un tumor. Esta hipoacetilación puede afectar tanto directamente en el desarrollo del tumor, como en la expansión y metástasis de este.

5.2.2. Inhibidores de HDAC como tratamiento anticancerígeno

Normalmente, un bajo nivel de acetilación se asocia con una alta actividad de las HDAC, por ejemplo, la sobreexpresión de HDAC1 está presente en diversos cánceres como el de estómago, próstata o mama, lo que provoca en muchos casos la represión de genes supresores de tumores al desacetilar las histonas.

Las HDAC son metaloenzimas, su centro activo está constituido por un bolsillo hidrofóbico en cuyo extremo presenta un átomo de Zn^{2+} , esencial para su actividad. En base a esta estructura y mecanismo de acción, se diseñaron inhibidores de las HDAC capaces de coordinarse con el átomo de Zn^{2+} . Con estos inhibidores se logra la correcta expresión de los genes silenciados y, al mismo tiempo, frenar la proliferación celular e inducir la diferenciación de las células. Los inhibidores de HDAC se dividen en 5 categorías principales:

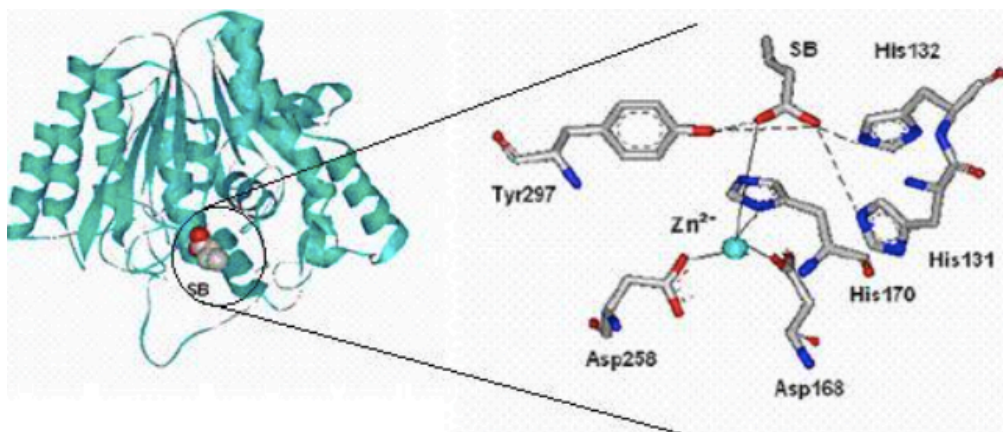


Figura 3: Centro catalítico de HDAC en el que se observa el átomo de Zn^{2+} [9].

a) Ácidos hidroxámicos:

Estos compuestos representan el grupo más estudiado dentro de los inhibidores de las HDAC. Actúan como agentes quelantes de Zn^{2+} sobre el sitio activo de la enzima, el cual pueden alcanzar gracias a la presencia de un grupo espaciador que conecta los dos extremos de la molécula. En uno de los extremos encontramos un sistema aromático que se dispone en la zona hidrofóbica de la enzima, y que además presenta grupos polares (-NH) capaces de interaccionar a través de puentes de hidrógeno

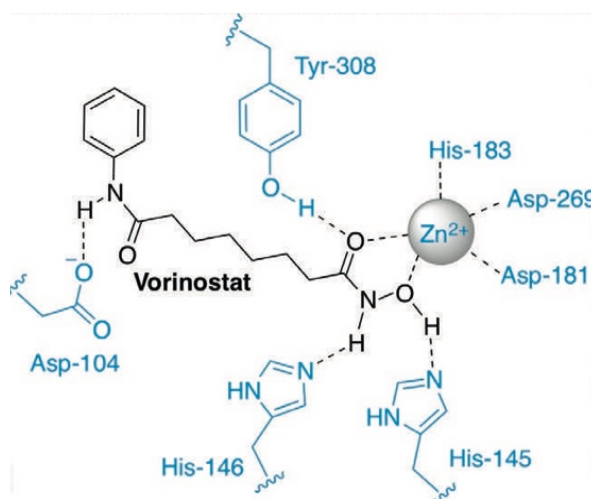


Figura 4. Interacción de vorinostat con el centro activo de la HDAC. [6]

con la enzima, concretamente con un residuo de Asp. En el segundo extremo se dispone el grupo que aporta la alta afinidad hacia el Zn^{2+} , el ácido hidroxámico, que a través de su átomo de oxígeno carbonílico e hidroxámico, se coordina con el Zn^{2+} , además de establecer puentes de hidrógeno complementarios como se muestra en la Figura 4. La tricostatina A y el vorinostat fueron las primeras moléculas desarrolladas con actividad anticancerígena efectiva dentro de este grupo, sin embargo la primera dio lugar a múltiples efectos adversos que impidieron su puesta en marcha en la clínica. [6]

El vorinostat, comercializado como Zolinza[®], fue el primer inhibidor de HDAC en llegar al mercado. Fue aprobado por la FDA para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T, así como para el mieloma múltiple. A partir del descubrimiento del vorinostat se fueron desarrollando otras moléculas como belinostat (Beleodaq[®]) o panobinostat (Farydak[®]), siendo esta última la más recientemente aprobada para el tratamiento del mieloma múltiple resistente a otros tratamientos en administración conjunta con el inhibidor del proteosoma bortezomib (Velcade[®])[11].

b) Benzamidas

La benzamidas presentan como grupo espaciador un derivado de ácido benzoico. Dentro de este grupo están el entinostat y mocetinostat. Ambos se encuentran aún en ensayos clínicos para el tratamiento tanto en monoterapia como en combinación con otros antitumorales de diversos cánceres como mielomas, leucemias o linfomas de tipo Hodgkin y no-Hodgkin. [12]

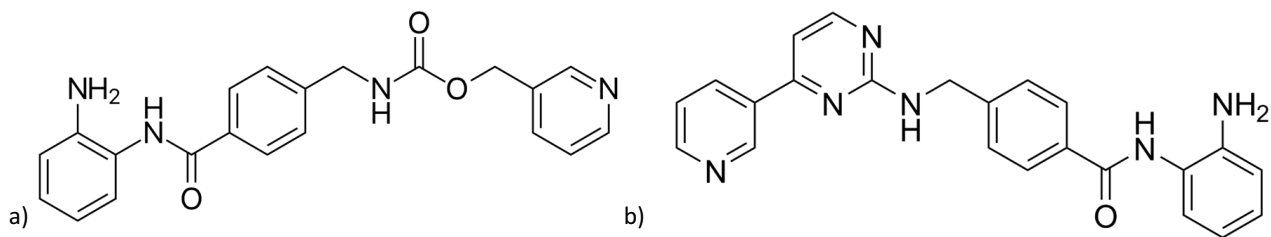


Figura 5. Fórmulas de a) entinostat y b) mocetinostat.

La presencia del grupo amino en posición orto del sistema N-fenilbenzamida juega un papel esencial en el anclaje al sitio activo de la HDAC, y por lo tanto es esencial para la actividad inhibitoria. En el caso del entinostat, se ha demostrado el anclaje con el zinc, provocando la inhibición de la HDAC, inhibiendo así la proliferación de células tumorales, tanto en tumores sólidos como hematológicos [13].

c) Tioles

El principal representante de este grupo es la psammaplina A. Se trata de un profármaco, que se activa por reducción de la función disulfuro al correspondiente grupo sulfhidrilo, el verdadero responsable del anclaje en el sitio activo de la enzima, pues es el que va a establecer las interacciones con el átomo de zinc.

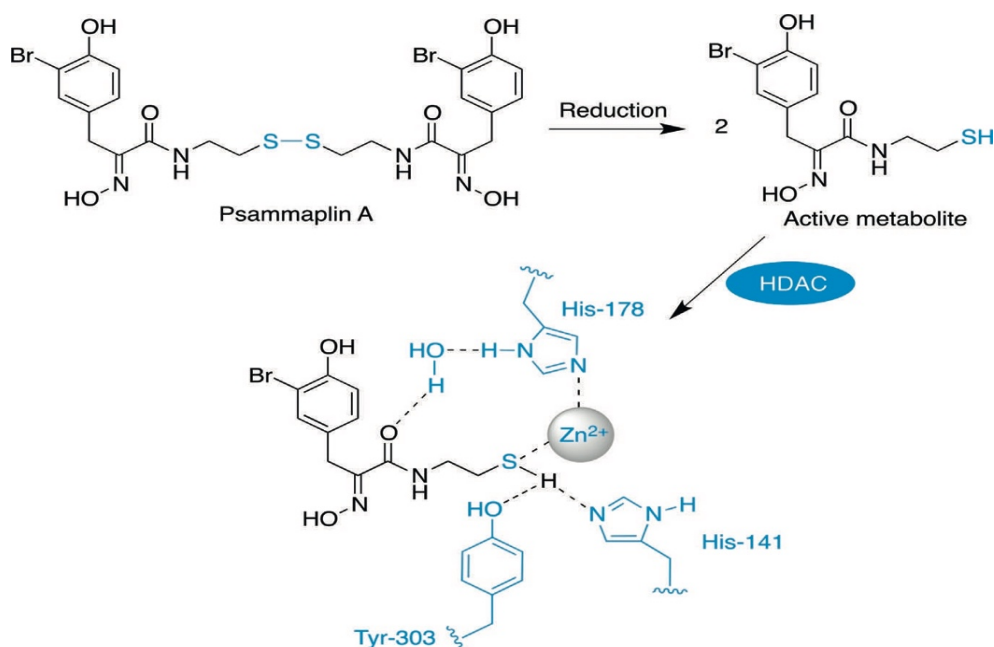


Figura 6. Mecanismo de bioactivación de la psammaplina A e interacciones con el centro activo de la HDAC [6]

La psammaplina A presenta una actividad inhibitoria muy potente, lo que le ha servido para ser el modelo estructural de nuevos inhibidores de HDAC, para ello se basaron en la relación estructura-actividad de HDAC [14]. El estudio reveló los siguientes datos: con respecto a la posición de sustitución del bromo, se observó que la mayor actividad se alcanzaba en la posición C5, representando el resto de posibilidades una disminución tanto en la selectividad como en la actividad. La función oxima es esencial para la actividad, puesto que aquellos derivados que carecían de este grupo, fueron inactivos. De la misma manera se demostró la necesidad de la presencia del puente disulfuro para la actividad de la molécula, resultando un compuesto inactivo tras el intercambio del azufre por carbono.

d) Tetrapéptidos cíclicos

La romidepsina (Istodax[®]) es un compuesto natural que fue aprobado por la FDA en 2009 para el linfoma cutáneo de células T, siendo considerado de gran potencia como inhibidor de HDAC. Su característica estructural más llamativa es el esqueleto de depsipéptido bicíclico, con un enlace disulfuro intramolecular. La romidepsina es un profármaco, su mecanismo de bioactivación se basa en la reducción catalizada en el interior de las células por el glutatión, que rompe el enlace disulfuro obteniéndose el derivado semi-abierto con dos funciones sulfhidrilo. Posteriormente, el grupo sulfhidrilo que se encuentra en el extremo de la cadena de cuatro carbonos es el responsable de formar un puente disulfuro covalente con el único residuo de cisteína del centro activo de la HDAC, inactivándola [15]

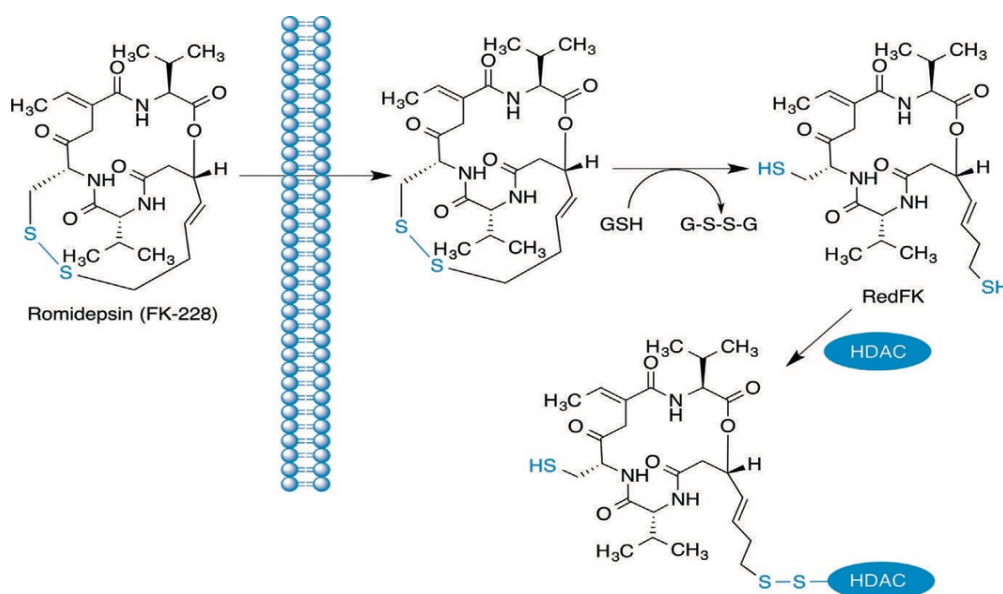


Figura 7. Proceso de bioactivación de la romidepsina.

Otros compuestos naturales pertenecientes a este grupo, son la trapoxina A y B. Presentan también una estructura de tetrapéptido cíclico hidrofóbico que a diferencia de la romidepsina, tienen un grupo epóxido, lo que le confiere una toxicidad demasiado elevada para poder tener aplicación terapéutica. Sin embargo, estas estructuras han servido como modelo para el desarrollo de otros derivados como la apicidina, que carece del grupo epóxido, no esencial para la inhibición de la HDAC, y se encuentra actualmente en ensayos preclínicos como agente antitumoral.

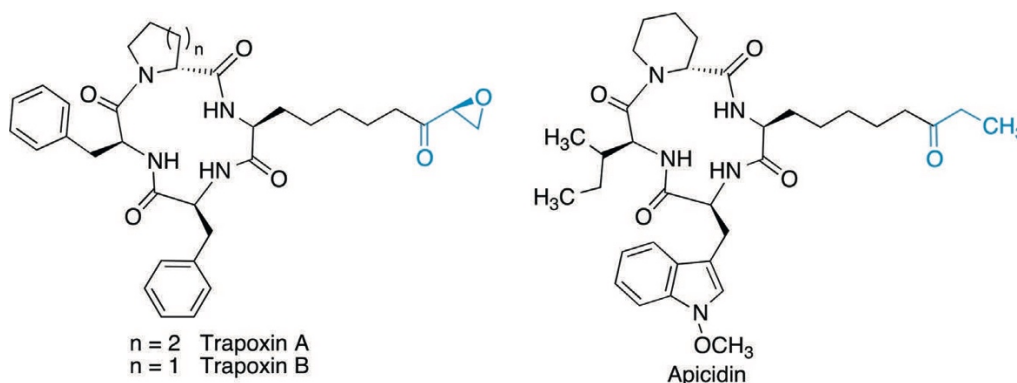


Figura 8. Fórmulas de la trapoxina A, B y de la apicidina.

e) Ácidos grasos de cadena corta

Dentro de este grupo, el ácido butírico y valproico fueron los primeros en ser descubiertos como inhibidores de HDAC, y posteriormente la tributirina, profármaco del ácido butírico que presenta un mejor perfil farmacocinético y eficacia, aunque se encuentra aún en fase de ensayos clínicos para diversos cánceres.

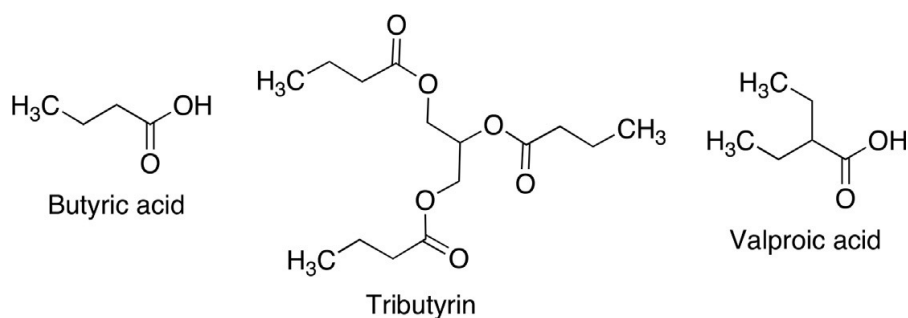


Figura 9. Estructura de algunos ácidos grasos de cadena corta inhibidores de HDAC.

5.3. Inhibidores de bromodominio

El bromodominio es una región moduladora que se encuentra en múltiples proteínas asociadas a la cromatina y a la transcripción de genes. Su importancia reside en que son capaces de reconocer residuos acetilados de lisina, lo que le confiere un papel esencial en la regulación de la transcripción génica a través del reclutamiento de diversas moléculas. En los últimos años, ha habido un creciente

interés en la investigación de nuevas moléculas dirigidas específicamente hacia estos bromodominios, lo que ha supuesto un conocimiento más profundo sobre las funciones biológicas que desempeñan las proteínas portadoras de bromodominios, así como una nueva línea terapéutica en cáncer.

5.3.1 Inhibidores BET

Múltiples estudios se han centrado en el desarrollo de inhibidores de la familia de proteínas moduladoras epigenéticas BET (bromodomain and extra-terminal). Este grupo de inhibidores presenta una estructura común con un núcleo de tienodiacepina o benzodiacepina. La estructura química de estos dominios se caracteriza por un bolsillo hidrofóbico formado por dos alfa-hélices unidas por un lazo, a través del cual se reconocen los residuos de lisina acetilada. Existen cuatro subgrupos diferentes de estas proteínas BET: BRD2, BRD3, BRD4 y BRDT, siendo la isoforma BRD4 la más relevante de esta familia, puesto que interviene en la regulación de la transcripción llevada a cabo por la RNA polimerasa II. Todas cuentan con dos bromodominios, BD1 y BD2, dominios proteicos que constituyen módulos de interacción con cromatina encargados de reconocer e interactuar con los residuos N-acetilados de lisina en las histonas, promoviendo el reclutamiento del factor B de elongación transcripcional positiva (P-TEFb), esencial para la biosíntesis de c-Myc, protooncogen implicado en la promoción de múltiples cánceres. En resumen, BRD4 modula la actividad global de P-TEFb en la célula, que acopla el estado de acetilación de la célula con el reclutamiento de factores de transcripción y en general con la maquinaria de transcripción.

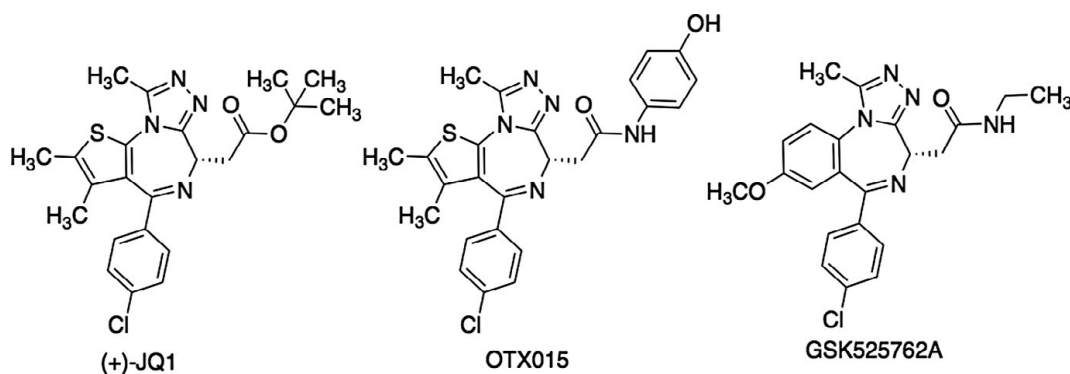


Figura 10. Estructuras de algunos inhibidores BET seleccionados.

La primera molécula desarrollada como inhibidor BET fue (+)-JQ1, un derivado dextrógiro de tienotriazolo-1,4-diazepinas que fue propuesto para el tratamiento del carcinoma de línea media (NMC), en cuyo desarrollo está implicada la proteína BRD4, que fusionada con la proteína nuclear en los testículos NUT, forma el complejo proteico BDR4-NUT, el cual actúa como una oncoproteína estimulando la expresión errante de genes y haciendo que las células pierdan su identidad y se conviertan en células cancerosas [16].

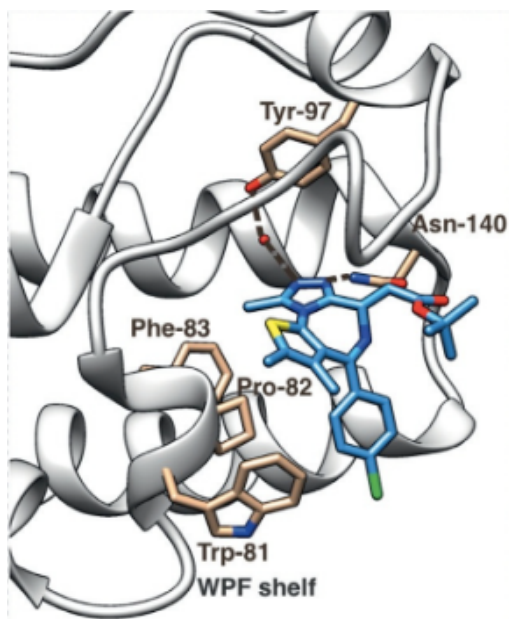


Figura 11. Estructura tridimensional del complejo JQ1-BRD4

(+)-JQ1 actúa como un inhibidor competitivo, bloqueando el bromodominio, de tal forma que no se expresen los protooncogenes MYC, ni el complejo BRD4-NUT. La difracción de rayos X del complejo que forma (+)- JQ1 con BRD4, mostró que la porción de metiltriazol ocupa en un bolsillo hidrófobo el lugar de unión de las lisinas acetiladas. Los dos átomos de nitrógeno adyacentes del anillo 1,2,4-triazol mimetizan el grupo carboxamida y se unen a través de enlaces de hidrógeno al grupo NH_2 de la asparagina 140 y al grupo hidroxilo de la tirosina 97, en este caso a través de una molécula de agua, mientras que el sustituyente metilo del anillo de triazol se enlaza al lugar que ocupa el grupo metilo del acetilo (Figura 11). De esta forma, al impedir

que los residuos de N-acetil-lisina de la cromatina sean “leídos”, los inhibidores BRD4 impiden la transcripción del ADN. Otro compuesto de estructura análoga a (+)-JQ1 es el OTX015, que se encuentra actualmente en fase I de ensayos clínicos para el tratamiento de tumores hematológicos. I-BET762 (GSK-525762), es un inhibidor de estructura benzodiazepínica que también se encuentra en fase I/II de ensayos clínicos contra distintas NMC y otras malignidades[17].

5.3.2. Inhibidores no BET

El éxito obtenido con los inhibidores de la familia BET en múltiples procesos biológicos, ha despertado el interés en nuevas investigaciones para el desarrollo de inhibidores selectivos de bromodominios no pertenecientes a la familia BET, lo que ha supuesto un reto aún mayor, puesto que constituyen dianas con un anclaje más superficial. Al contrario que en los inhibidores de bromodominio de la familia BET, estos no presentan analogía estructural entre ellos, si no que, al estar dirigidos a dianas tan diversas, va a haber una gran variabilidad de estructuras químicas. Todas estas moléculas se encuentran actualmente en fase de ensayos clínicos para la evaluación de su aplicación y efectividad terapéutica. Algunos de estos inhibidores se recogen en la Figura 12. junto con los bromodominios que tienen como diana [18].

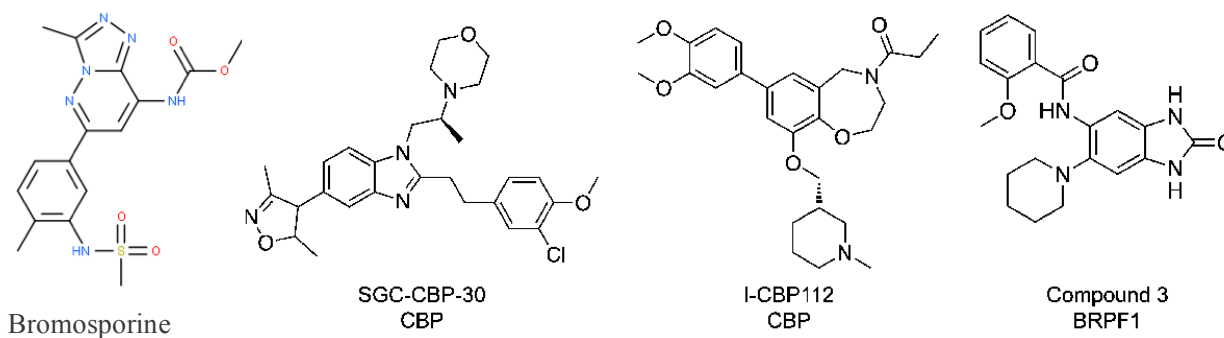


Figura 12. Estructura química de algunos inhibidores de bromodominios fuera de la familia BET

La alta variabilidad estructural de bromodominios no BET, hizo que fuera necesario el desarrollo de un inhibidor capaz de reconocer una amplia heterogeneidad de bromodominios. Surge así la bromosporina (BSP), inhibidor de bromodominios de amplio espectro que constituye una herramienta muy útil en la identificación de procesos celulares y enfermedades donde estos dominios desempeñan una función reguladora. Se investigó el efecto de BSP en líneas celulares de leucemia sensibles a inhibidores BET, que a su vez, también respondieron a la BSP con una fuerte actividad antiproliferativa.

Recientemente se han desarrollado nuevos inhibidores del bromodominio CBP, como son SGC-CBP-30 y I-CBP112, mientras que sus antecesores no mostraban la potencia adecuada, estos últimos presentan una selectividad muy elevada a la diana. El dominio CBP se asocia a múltiples trastornos, como leucemia mieloide aguda, así como diversas enfermedades neurodegenerativas.

5.4. Inhibidores de histona metiltransferasas

Las histonas también pueden sufrir el proceso de metilación, catalizado por las histonas metiltransferasas a través del grupo metilo cedido por la S-adenosil metionina (SAM). En este caso, la metilación no altera la carga positiva de los grupos aminos de los residuos de lisina, lo que ocurre es que esta modificación es reconocida por proteínas “lectoras” que reclutan enzimas cuya actividad altera el grado de empaquetamiento de la cromatina y por lo tanto afecta a la transcripción génica.

Se ha observado que en diversos cánceres la histona lisina N-metiltransferasa EZH2 está sobreexpresada, siendo esta isoforma la que cataliza la metilación de de la histona H3K27. El descubrimiento de la 3-deazenaplanocina A (DZNep) como inhibidor de EZH2, ha supuesto una novedosa posibilidad de tratamiento en el cáncer.

5.5. Desmetilasas específicas de lisina

Las desmetilasas específicas de lisina (LSD) son un grupo de proteínas “borradoras” que catalizan la desmetilación de lisinas por una reacción dependiente de FAD, y están implicadas en el control

epigenético de la diferenciación celular y en el desarrollo y mantenimiento del cáncer. La desmetilasa específica de lisina LSD1 y LSD2, comparten un dominio catalítico similar, que es estructuralmente homólogo con las monoamina-oxidasas (MAO A y B) y que a su vez presenta dos subdominios, uno al que se une el cofactor FAD, y otro de unión al sustrato. Además, presenta otro dominio de factor asociado a cromatina que participa en las interacciones proteína-proteína, lo que explica que las LSD puedan reconocer distintos tipos de sustratos. La tranilcipromina, (\pm) trans-2-fenilciclopropil-1-amina (tPCPA), un inhibidor de la MAO utilizado como fármaco antidepresivo, también es capaz de inhibir la LSD1 mediante la formación de un aducto con el cofactor FAD en el dominio monoamino-oxidasa. Para evitar los efectos adversos derivados de la inhibición no selectiva de monoamino-oxidasas, se han desarrollado derivados de tPCPA mediante la modificación del grupo fenilo y amino, obteniéndose así inhibidores más selectivos y potentes de LSD1.

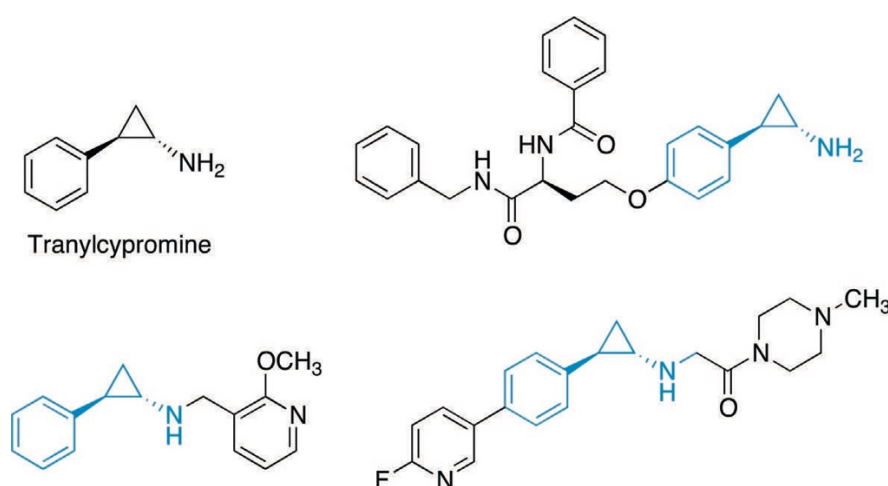


Figura 13. Estructura química de tPCPA y derivados.

5.6. Terapia combinada en el tratamiento del cáncer basado en mecanismos epigenéticos

La efectividad de la monoterapia en el tratamiento del cáncer se ha puesto en evidencia a partir de nuevos ensayos clínicos que sugieren una mayor respuesta en aquellos pacientes que han sido tratados con más de un agente anticanceroso. Esta combinación puede ser tanto entre fármacos de terapia epigenética así como antitumorales de terapias más tradicionales. La combinación más ampliamente explorada ha sido la de iDNMT con iHDAC. Esta idea surge a raíz del hecho de que un ADN con alto grado de metilación está asociado a una cromatina transcripcionalmente reprimida, lo que generalmente va acompañado de un bajo grado de acetilación de los residuos de lisinas de las histonas. Son múltiples los estudios que afirman que una terapia basada en la combinación de estos dos tipos de inhibidores, resulta en un aumento de la expresión de genes silenciados, incluyendo aquellos que intervienen en la represión tumoral o en la inducción de la apoptosis. El único problema radica en que para la realización de estos estudios han sido necesarias dosis muy elevadas de los fármacos, lo

que puede dar lugar a la aparición de efectos adversos que harían replantear la aplicación de esta combinación. Este tratamiento potencial se encuentra a la espera de la evaluación de los beneficios de cada fármaco por separado en comparación con su asociación, además de diversas investigaciones en torno a los mecanismos de eficacia y biomarcadores que puedan ayudar a detectar aquellos pacientes candidatos a recibir este tratamiento.

6. Conclusiones

La terapia epigenética ha demostrado ser una nueva e importante vía de tratamiento del cáncer, cuyos resultados han hecho que cada vez se apueste más por esta. Son múltiples los procesos bioquímicos esenciales en la carcinogénesis que son regulados por mecanismos epigenéticos, como el remodelamiento del nucleosoma por las modificaciones de histonas y metilación del ADN entre otros. Además, la presencia de mutaciones en genes involucrados en la epigenética ha aumentado aún más su asociación con el cáncer. El futuro de la epigenética es muy prometedor y todavía queda un vasto campo donde investigar y descubrir nuevas dianas que podrían acercarnos a terapias cada vez más personalizadas y adaptadas al paciente con el objetivo de alargar y mejorar su calidad de vida y disminuir el impacto de la toxicidad del tratamiento.

7. Bibliografía

- [1] SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica [Internet]. Madrid: SEOM *¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla?*; 3. Disponible en: <https://www.seom.org/es/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla>
- [2] Rodríguez Dorantes Mauricio, Téllez Ascencio Nelly, Cerbón Marco A., López Marisol, Cervantes Alicia. *Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica*. Rev. invest. clín. 2004; 56: 56-71.
- [3] Delgado Morales Raúl. *¿Qué es epigenética? ¿Y tú me lo preguntas? Epigenética... eres tú. (Parte II)*. Investigación y ciencia. SciLogs. 2014. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/blogs/psicologia-y-neurociencia/44/posts/qu-es-epigenetica-y-t-me-lo-preguntas-epigenetica-eres-t-parte-ii-12461>
- [4] Ángel Rodríguez de Lera. *Epigenética y modulación química de la transcripción génica con productos naturales*. An. Quím. 2016; 112, 151-170.
- [5] Marco A. Cebrón. Nelly Téllez. Marisol López. Alicia Cervantes. *Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica*. Rev. invest. clín. 2004; 56
- [6] Carmen Avendaño. J. Carlos Menéndez. *Epigenetic therapy of cancer*. Medicinal chemistry of anticancer drug (2 Ed.). Elsevier; 2015. 325-356.

- [7] IECS *Azacitidina y decitabina en síndromes mielodisplásicos*. Documentos de Evaluación de Tecnologías Sanitarias, Informe de Respuesta Rápida N° 159. 2008.
- [8] Grupo de Patología Mieloide de la Asociación Castellano-Leonesa de Hematología y Hemoterapia. *¿Qué son los síndromes mielodisplásicos?*(1 Ed.) Brick de Comunicación, S.L. 2007.
- [9] Alejandro Belmonte Fernández. *Las HDAC en la regulación de la expresión génica y el cáncer*. Universidad Pablo de Olavide 2015. Disponible en:
https://www.upo.es/moleqla/export/sites/moleqla/documentos/Articulo_destacado_2.pdf
- [10] Tabraue-Chávez M, Panadero-Fajardo S, Arévalo-Ruiz M, Domínguez-Seglar JF, Gómez-Vidal JA. *Síntesis y evaluación de nuevos inhibidores de las HDAC*. Universidad de Granada. *Ars Pharm.* 2010; 51: 541-548.
- [11] Peter A. Jones, Jean-Pierre J. Issa and Stephen Baylin. *Targeting the cáncer epigenome for therapy*. *Nat Rev Genet.* 2016;17:630-641.
- [12] Xavier Pujol, Juli Peretó, José María Vega, Ángel Herráez, César de Haro. *Epigenética*. SEBBM. Marzo 2014; 179.
- [13] *Entinostat (MS-275). HDAC inhibitor. Selleckchem*. [Internet] [citado 5 abril 2018]. Disponible en:
<http://www.selleckchem.com/products/MS-275.html>
- [14] Lucia Altucci, Lera Angel De, Hinrich Gronemeyer, Hendrik Gerard Stunnenberg. *Derivados novedosos de la psammaplina a, un método para su síntesis y su uso para la prevención o el tratamiento del cáncer*. Patente española. 2017. Disponible en: <https://patents.google.com/patent/ES2372717T3/es#citedBy>
- [15] Carmen Avendaño López. *Agentes reversores de latencia como parte de las estrategias para curar la infección HIV*. *An Real Acad Farm.* 2017; Vol. 83: 211-223.
- [16] Montserrat Pérez-Salvia y Manel Esteller. *Bromodomain inhibitors and cancer therapy: From structures to applications*. *Epigenetics.* 2017; 12: 323–339.
- [17] Carmen Avendaño. *Inhibidores BET. El singular compuesto (+)-JQ1*. *An Real Acad Farm.* 2015; Vol. 81:214-220.
- [18] Javier Pérez Peña. Tesis doctoral: *Identificación de vulnerabilidades moleculares en cáncer de mama triple negativo: Inhibidores de bromodominios*. Universidad de Castilla-La Mancha, Complejo Universitario Hospitalario de Albacete. Disponible en:
<https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/12473/TESIS%20Pérez%20Peña.pdf?sequence=1>

