



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**LA TERAPIA EPIGENÉTICA DEL CÁNCER**

Autor: Sonsoles De Meer Méndez

Fecha: Junio 2019

Tutor: Mercedes Villacampa Sanz

## ÍNDICE

|                                                     |    |
|-----------------------------------------------------|----|
| <b>1. RESUMEN</b> .....                             | 2  |
| <b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....                        | 3  |
| <b>3. OBJETIVOS</b> .....                           | 4  |
| <b>4. METODOLOGÍA</b> .....                         | 4  |
| <b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>                    |    |
| 5.1 <i>Metilación del DNA</i> .....                 | 4  |
| - Inhibidores de DNA metiltransferasas              |    |
| 5.2 <i>Acetilación de histonas</i> .....            | 7  |
| - Inhibidores de histona desacetilasas              |    |
| 5.3 <i>MicroRNAs</i> .....                          | 11 |
| 5.4 <i>Bromodominios</i> .....                      | 12 |
| - Inhibidores de bromodominios                      |    |
| 5.5 <i>Metilación de histonas</i> .....             | 14 |
| - Inhibidores de histona metiltransferasas          |    |
| 5.6 <i>Desmetilación de lisinas</i> .....           | 15 |
| - Inhibidores de desmetilasas específicas de lisina |    |
| 5.7 <i>Terapia combinada</i> .....                  | 16 |
| <b>6 CONCLUSIONES</b> .....                         | 17 |
| <b>7 BIBLIOGRAFÍA</b> .....                         | 18 |

## 1 RESUMEN

La patología del cáncer se desarrolla, según indican numerosos estudios, por mecanismos genéticos y epigenéticos. Los primeros se refieren a cambios en la secuencia del genoma, las mutaciones propiamente dichas. Mientras que los segundos, son modificaciones en la expresión génica cuyas consecuencias pueden ser alteraciones en la transcripción del ADN, activación descontrolada de determinados genes, predisposición a la inestabilidad génica y el silenciamiento de genes supresores de tumores. [1]

Tras hallar la relación que existe entre las alteraciones epigenéticas y la tumorigénesis, se ha abierto un nuevo campo de investigación: la terapia epigenética, con el objetivo de buscar nuevas dianas y diseñar nuevos fármacos más específicos para el tratamiento del cáncer, así como incorporar otras técnicas de diagnóstico y prevención de tumores. Los mecanismos epigenómicos más estudiados son la metilación del DNA, relacionada con el silenciamiento de genes, y la acetilación de histonas, que está fuertemente implicada en la transcripción génica. Los fármacos dirigidos a restablecer el funcionamiento normal de los mecanismos que se encuentran alterados, son capaces de intervenir la actividad de las enzimas que llevan a cabo estos procesos con el objetivo de activar genes, como genes supresores de tumores, o impedir el desarrollo de oncogenes y frenar la progresión del cáncer. En fases I y II de ensayos clínicos se encuentran otros muchos compuestos destinados a diferentes dianas, entre las que destacan los bromodominios, grupos proteicos implicados en la activación de oncogenes. La terapia epigenética es el paso hacia un futuro tratamiento combinado con otras terapias antitumorales y especializado para cada tipo de cáncer.

*Palabras clave: cáncer, terapia epigenética, metilación del DNA, acetilación de histonas, bromodominios*

### ABSTRACT

According to numerous studies, the pathology of cancer develops by genetic and epigenetic mechanisms. The first refers to changes in the genome sequence, the mutations themselves, while the latter, are modifications in gene expression whose consequences may be alterations in DNA transcription, uncontrolled activation of certain genes, predisposition to gene instability and the silencing of tumor suppressor genes.

After finding the connection between epigenetic alterations and tumorigenesis, a new field of research has been opened: epigenetic therapy, with the aim of searching for new targets and designing new more specific drugs for the treatment of cancer, as well as incorporating other tumor diagnosis and prevention techniques. The most studied epigenomic mechanisms are DNA methylation, related to gene silencing, and histone acetylation, which is strongly involved in gene transcription.

Drugs aimed at restoring the normal functioning of the mechanisms that are altered, are able to intervene the activity of the enzymes that carry out these processes in order to activate genes, such as tumor suppressor genes, or prevent the development of oncogenes and slow down the progression of cancer. In phases I and II of clinical trials are many other compounds intended for different targets, among which are bromodomains, protein groups involved in the activation of oncogenes. Epigenetic therapy is the step towards a future treatment combined with other anti-tumor therapies and specialized for each type of cancer.

*Key words: cancer, epigenetic therapy, DNA methylation, histone acetylation, bromodomains*

## 2 INTRODUCCIÓN

“Si el genoma es el abecedario, el epigenoma es la ortografía. Un acento mal puesto, una letra fuera de lugar puede modificar por completo el significado que tiene una palabra, aunque esa palabra sea aparentemente la misma.” [2]

Esta comparación de Manel Esteller, director del programa de Epigenética y Biología del Cáncer del Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge, nos permite definir el epigenoma como el conjunto de modificaciones covalentes que se producen en la cromatina y que determinan la expresión de los genes. La **epigenética** (del griego *epi*, *en o sobre*, *-genética*) es el estudio de los cambios en la expresión genética que no se deben a alteraciones en la secuencia de nucleótidos sino a modificaciones en la estructura del DNA que provocan el silenciamiento o activación de genes por factores externos. [1]

Todas las células del organismo heredan el mismo material genético. La capacidad de las células para desarrollar determinadas características y funciones biológicas en los distintos órganos y tejidos se debe a ciertas diferencias en el empaquetamiento del DNA y la cromatina. Estas diferencias se traducen en programas de expresión génica especializados para cada célula, sin alterar la secuencia base. [3] Para comprender mejor los mecanismos epigenéticos, es conveniente introducir la estructura del DNA. El núcleo de cada célula humana es capaz de albergar la doble hélice, que mide aproximadamente 2m de largo, gracias a su empaquetamiento en forma de cromatina. La unidad básica de repetición de la cromatina es el nucleosoma, que consta de 146 nucleótidos envueltos en un octámero de proteínas llamadas histonas. La modulación de la envoltura del DNA alrededor de dicho octámero constituye la base de la regulación de la transcripción génica.

Las modificaciones epigenéticas se pueden producir en el DNA, destacando como ejemplo los mecanismos de metilación de citosinas, o en las “colas” de aminoácidos que sobresalen de las histonas, por mecanismos de acetilación de lisinas o metilación de argininas y lisinas, entre otros. Las enzimas que llevan a cabo estas modificaciones reciben el nombre de “escritores” o “borradores” del genoma. También existen proteínas asociadas a la cromatina denominadas “lectores” involucradas en el reclutamiento de otras proteínas con capacidad de modificar la cromatina. Estos mecanismos actúan a modo de interruptores “on/off” determinando el estado activo/represivo de la cromatina, y con ello, de la expresión génica. [4]

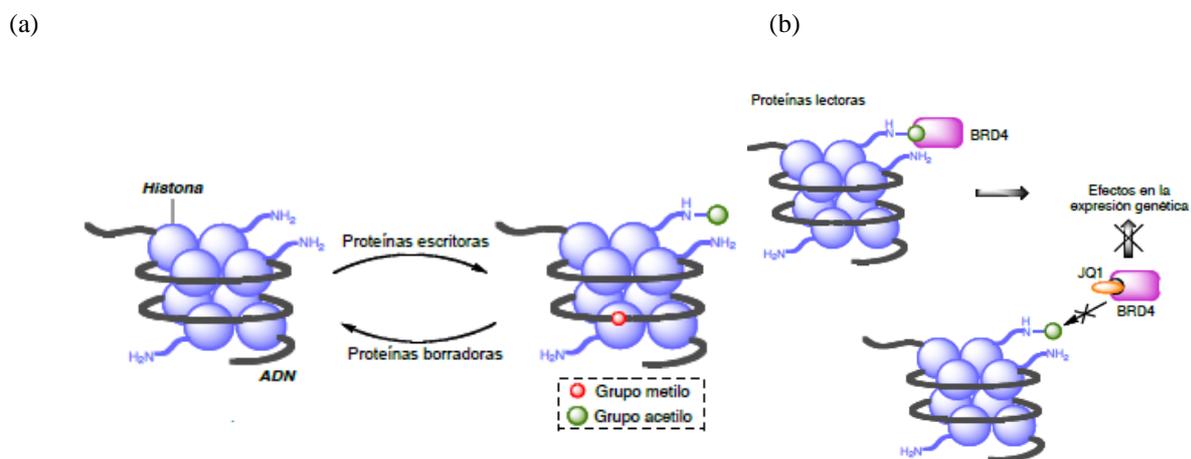


Figura 1. (a) Proteínas epigenéticas lectoras y borradoras. (b) Inhibición de la proteína epigenética lectora BRD4 [12]

### 3 OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es el estudio bibliográfico de las terapias antitumorales que tienen como diana las alteraciones epigenéticas involucradas en el inicio y desarrollo de cáncer. El análisis se lleva a cabo con una visión química-farmacéutica enfocada hacia la estructura de los fármacos y sus mecanismos de acción a nivel molecular.

### 4 METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de múltiples artículos de actualidad procedentes de revistas científicas consultados en diferentes fuentes de información: *PubMed*, *ScienceDirect*, *JOC*, *NCBI*, *ACS Medicinal Chemistry Letters*, *ASPET* y *AACR*, entre otras. Además, se han consultado otros organismos de interés como la OMS, la Real Academia Nacional de Farmacia y el Instituto Nacional del Cáncer. Tras haber analizado y contrastado las fuentes, se ha escrito este trabajo organizando y seleccionando la información más relevante conforme al objetivo propuesto.

### 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se destacan las alteraciones epigenéticas que han demostrado estar implicadas en el inicio y la progresión del cáncer, así como las principales enzimas responsables de dichas alteraciones. Además, se explican los mecanismos de los fármacos aprobados y los que se encuentran todavía en ensayos clínicos, diseñados para actuar en las nuevas dianas como anticancerígenos.

#### 5.1 Metilación del DNA

La metilación del DNA es un proceso fuertemente implicado en el mantenimiento de la estabilidad del genoma, así como en la regulación de la transcripción y en el desarrollo del organismo. [5]

Las **DNA metiltransferasas (DNMTs)** son las enzimas que llevan a cabo este proceso provocando el silenciamiento de genes al metilar residuos de citosina en el carbono 5 (C-5). En condiciones normales, este proceso sucede en función de las necesidades celulares, sin embargo, se ha demostrado que el inicio y progreso de numerosos procesos tumorales están estrechamente relacionados con una alteración en la actividad de dichas enzimas. [5] Las células cancerígenas están caracterizadas por sufrir una masiva **hipometilación** en residuos de citosina localizados en regiones del genoma formadas por una secuencia de dinucleótidos CpG, denominadas “*islas CpG*”, y a la vez una **hipermetilación** en algunos promotores de genes supresores tumorales (GST).

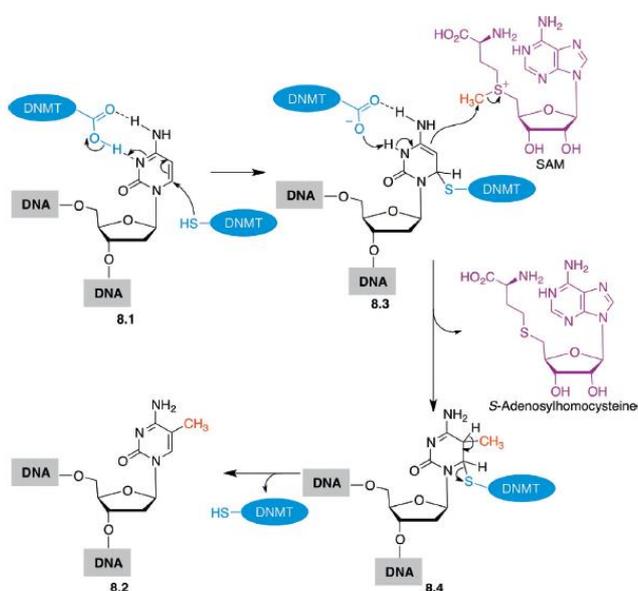


Figura 2. Mecanismo de metilación de citosina por DNMTs [71]

A medida que evoluciona el desarrollo tumoral, aumenta el grado de hipometilación, lo que contribuye a la tumorigénesis por la pérdida de la impronta de algunos genes y la activación de proto-oncogenes que se encuentran metilados, es decir, silenciados en condiciones normales. La hipermetilación de las regiones promotoras, formadas por *islas CpG*, de los GST es un factor causal de estados iniciales y tardíos de la oncogénesis ya que se traduce en un silenciamiento de la expresión de estos genes. Cabe destacar el gen Rb, que fue el primer GST identificado que es silenciado por la metilación de su promotor. También MLH1, que está relacionado con el cáncer de colon; p16, con el cáncer broncogénico; BRCA1, se encuentra hipermetilado en cáncer de mama y VHL en el cáncer renal. [6]

### 5.1.1 Inhibidores de DNA-metiltransferasas (iDNMTs)

Conociendo la fuerte relación que existe entre la hipermetilación de las *islas CpG* de las regiones promotoras de genes supresores de tumores (GST) y la aparición de cáncer, un blanco fundamental de la terapia epigenética es la inhibición de las enzimas DNA-metiltransferasas a fin de reanudar la actividad de los GST y poner en marcha las vías apoptóticas para la muerte de las células cancerígenas.

Se han desarrollado dos tipos de inhibidores de DNMTs:

#### 5.1.1.1 Inhibidores nucleosídicos

Son análogos de nucleósidos modificados en el anillo de citidina unidos a una ribosa o a una desoxirribosa. Su acción antineoplásica está basada en la inducción a la hipometilación del DNA, lo que reactiva la transcripción de los genes supresores de tumores que se encontraban previamente silenciados.

En primer lugar, deben convertirse en desoxinucleótidos por kinasas y ribonucleótido reductasas para poder incorporarse al DNA y formar un complejo con las DNMTs similar al que se produciría con el sustrato natural. Esta unión covalente, provoca la depleción de la enzima y la recuperación del patrón normal de metilación.

Como ejemplos de este grupo destacan **5-azacitidina** (Vidaza®) y **decitabina** (Dacogen®), cuyo mecanismo de acción es semejante y se encuentra esquematizado en la *figura 3*.

En el caso de la decitabina, observamos que una vez se une al DNA, ataca al grupo mercapto del sitio activo de la DNMT, formando un aducto y después de interaccionar con el cofactor SAM, queda metilada en N-5. La ausencia de un átomo de hidrógeno en esta posición impide la reacción de eliminación necesaria para restablecer la enzima, y queda así inhibida de forma irreversible. Provocan la diferenciación o la apoptosis de células tumorales, la re-expresión de GST y la modulación de la respuesta inmunológica. [5,6,7]

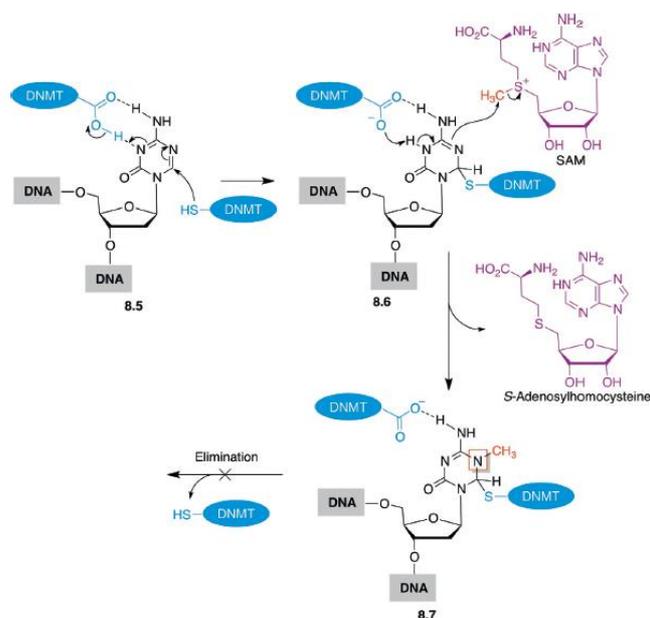
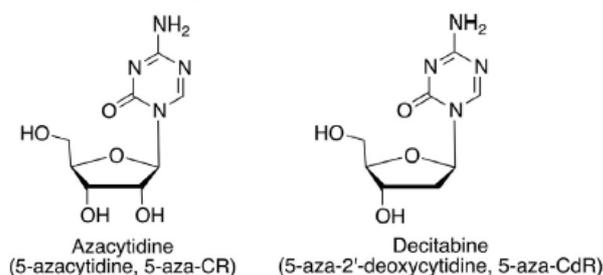


Figura 3. Mecanismo de acción de la decitabina [7]

Ambos compuestos están aprobados como antitumorales por la FDA, la EMEA y la AEMPS tras haber sido probada su eficacia en el tratamiento de síndrome mielodisplásico (MDS)



mostrando efecto supresor del crecimiento y de proliferación de células mieloides. Los estudios clínicos revelaron un 60% de mejorías clínicas frente al tratamiento convencional en los pacientes con síndromes mielodisplásicos con alto riesgo de progresión a leucemia aguda y sobrevida esperada menor de un año. [6]

Figura 4. Estructura de 5-azacitidina y decitabina [7]

Otros compuestos pertenecientes a este grupo son la **5-fluoro-2'-desoxicitidina**, **5,6-dihidro-5-azacitidina (DHAC)** y **zebularine**. Aunque están todavía en ensayos clínicos de fase I y II, resultan más estables en solución acuosa, menos tóxicos y más selectivos para las células cancerígenas ya que al eliminar la función imina en  $N_5 = C_6$  suprimiendo el doble enlace o el átomo de nitrógeno, se dificulta la adición de nucleófilos. [6,7]



Figura 5. Estructura de otros inhibidores nucleosídicos de DNMTs [7]

### 5.1.1.2 Inhibidores no nucleosídicos

La ventaja principal de estos inhibidores es su capacidad de unión directa al sitio catalítico de la enzima sin necesidad de unirse al DNA, aunque aún no están demostrados sus efectos sobre la viabilidad celular. De este grupo resaltamos el **EGCG**, un compuesto natural aislado del té verde cuyos estudios clínicos revelan un potencial para la prevención del cáncer, ya que es capaz de disminuir la actividad de DNMTs, proteasas y dihidrofolato reductasas. Su actividad ha sido estudiada *in vitro*, pero en los estudios *in vivo* no se ha detectado efecto en la metilación del DNA. [5]

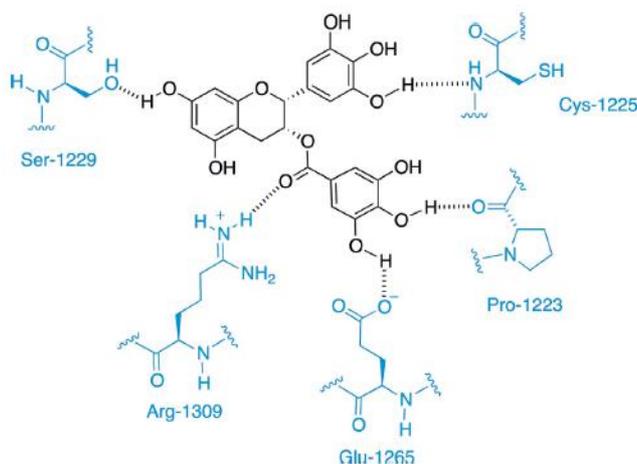


Figura 6. Interacción del inhibidor EGCG con la enzima DNMT [7]

## 5.2 Acetilación de histonas

El grado de empaquetamiento de la cromatina está determinado por las histonas. En ellas encontramos como marcadores químicos, los residuos de lisina que pueden estar acetilados o no en su extremo amino terminal.

La acetilación de histonas es llevada a cabo por las enzimas histona acetiltransferasas (HAT), que al incorporar el grupo acetilo, impiden la protonación del grupo amino y con ello el establecimiento de enlaces iónicos con los grupos fosfato del DNA. Así, queda la cromatina poco compacta y se permite la expresión génica. El grupo acetilo es eliminado por las enzimas histona desacetilasas (HDAC) que aumentan el grado de compactación de la cromatina al facilitar la protonación de los grupos amino y con ello la formación de enlaces tipo iónico con los grupos fosfato del ADN. Queda impedido el acceso a los factores de transcripción, reprimiendo la expresión génica. [16]

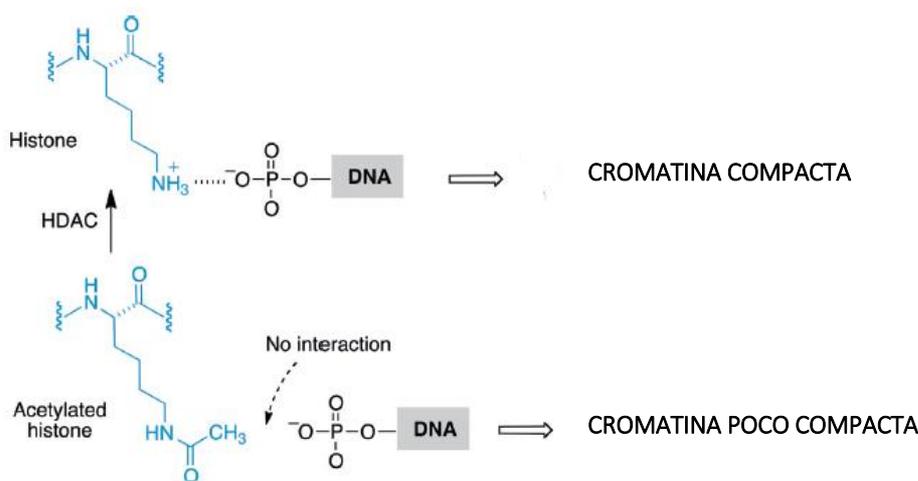


Figura 7. Esquema explicativo de la relación entre la acetilación de las histonas y la compactación de la cromatina [7]

Por tanto, la acetilación se asocia con un aumento de la actividad transcripcional mientras que la desacetilación conlleva la represión de la expresión génica. [8]

Como diana antitumoral se han desarrollado inhibidores de HDAC con el fin de mantener las histonas acetiladas y la cromatina poco compacta para potenciar la transcripción y expresión de genes como el gen supresor de tumores (GST) p53.

### 5.2.1 Inhibidores de histona desacetilasas (iHDAC)

En su sitio activo, las HDAC cuentan con un átomo de zinc contenido en el extremo de un “bolsillo” tubular hidrofóbico. El diseño de inhibidores está orientado a esta estructura, siguiendo un modelo básico formado por un grupo capaz de coordinarse con el zinc y un grupo lipófilo voluminoso unidos por un espaciador. La región espaciadora permite la inserción del grupo voluminoso en el “bolsillo” hidrofóbico y la coordinación con el zinc catalítico. [9]

En función de su estructura química y de su mecanismo de inhibición, se pueden clasificar los inhibidores de histona desacetilasas en siete categorías:

### 5.2.1.1 Ácidos hidroxámicos

Inhiben las HDAC de clase I y II de forma reversible uniéndose al sitio catalítico y bloqueando así el acceso de sustrato al ión zinc. El ácido hidroxámico es capaz de quelar el catión  $Zn^{2+}$  en la parte inferior de la bolsa catalítica de la HDAC y la parte voluminosa de la molécula actúa como una tapa. Ambas partes están conectadas por un espaciador que permite esta disposición.[\[8\]](#)

La **tricostatina A** (TSA) fue el primer compuesto que demostró tener actividad anti-HDAC. Se diseñó como antifúngico y más tarde fue descubierta su capacidad de inhibir la HDAC, pero sus múltiples efectos adversos han impedido su avance en la clínica como antitumoral.

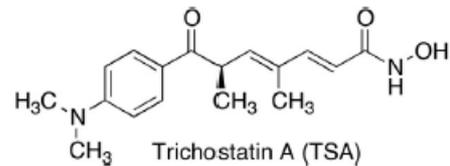


Figura 8. Estructura de la tricostatina A [\[7\]](#)

Basándose en la estructura de TSA, se diseñó el **vorinostat** (SAHA=suberoylanilide hydroxamic acid), que es el fármaco pionero de este grupo. Se trata del primer inhibidor de HDAC que superó los ensayos clínicos en humanos y llegó al mercado como Zolinza®. Aprobado por la FDA en 2006 para el tratamiento del linfoma cutáneo de células T (CTCL) y de mieloma múltiple (MM).

La interacción con la enzima tiene lugar al coordinarse el ácido hidroxámico con el catión  $Zn^{2+}$  del sitio activo por los oxígenos de los grupos hidroxilo y carbonilo, además de establecer enlaces de hidrógeno con dos histidinas (145,146) y una tirosina (308). El sistema aromático queda en la zona hidrófoba de la enzima y el grupo amino que lo acompaña establece un puente de hidrogeno con un residuo de ácido aspártico (104). [\[7,20\]](#)

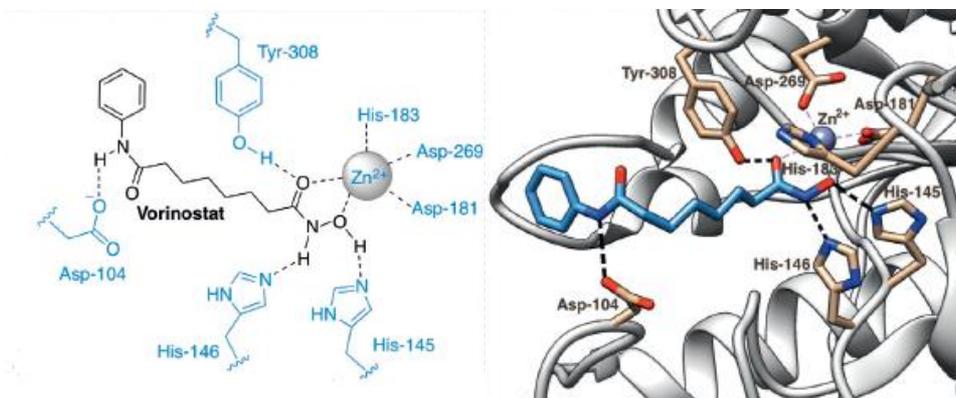


Figura 9. Interacción del inhibidor vorinostat con el sitio activo de la enzima HDAC [\[7\]](#)

Después, se han diseñado más inhibidores de HDAC como **panobinostat** (Farydak®) y **belinostat** (Beleodaq®), entre otros, que se encuentran en ensayos clínicos con actividad antitumoral aprobada también por la FDA frente a tumores sólidos y hematológicos. [\[7\]](#)

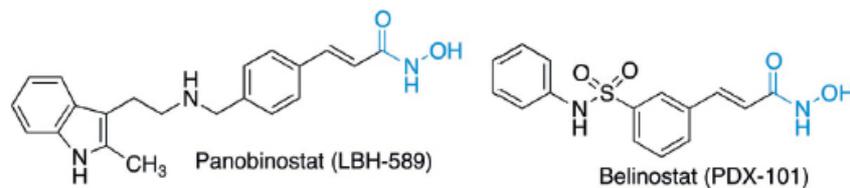


Figura 10. Estructura de otros inhibidores de HDAC [\[7\]](#)

### 5.2.1.2 Ácidos grasos de cadena corta

Los **ácidos butírico** y **valproico** fueron los primeros inhibidores de HDAC descubiertos y aunque su potencia es baja, han funcionado como herramienta para el estudio de otros inhibidores. La **tributirina** es un profármaco del ácido butírico con perfiles farmacocinéticos y de eficacia favorables que se encuentra en estudios clínicos para el tratamiento de tumores sólidos. El ácido valproico (Depakote®) está en ensayos para el tratamiento de cáncer de cervix y de ovario, y en combinación con el ácido trans-retinoico, para el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML). [7,8]

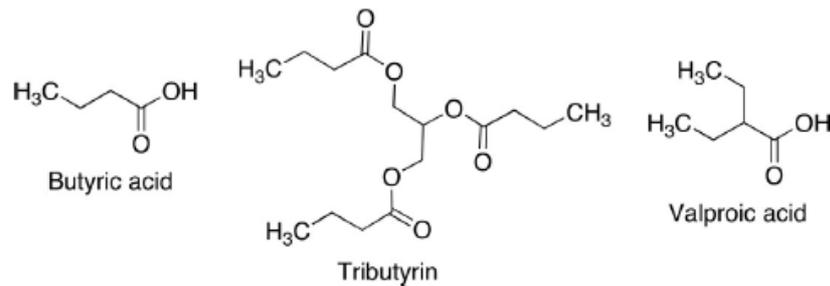


Figura 11. Estructura de los principales ácidos grasos de cadena corta que inhiben las HDAC [7]

### 5.2.1.3 Tetrapéptidos cíclicos

Los fármacos con estructura de tetrapéptido cíclico son capaces de inhibir la HDAC de forma irreversible.

Como representante de este grupo, destaca la **romidepsina** (Istodax®), un profármaco que se activa en el interior celular por glutatión. Se obtiene un derivado semiabierto con dos funciones sulfhidrilo. El grupo -SH situado al final de la cadena de cuatro carbonos establece un puente disulfuro con el único residuo de cisteína que contiene el centro activo la HDAC, y así queda inhibida. Este compuesto se encuentra en estudios clínicos para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica y AML. [7,8]

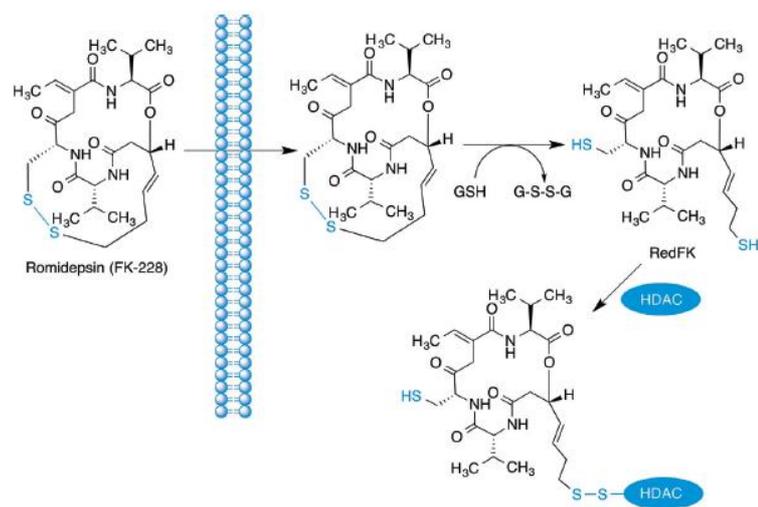


Figura 12. Mecanismo de acción de la romidepsina [7]

### 5.2.1.4 Inhibidores de HDAC4

La inhibición específica de la HDAC4 induce la expresión del gen p53, *el guardián del genoma*, que desempeña un papel esencial en el control del ciclo celular. Induce la respuesta de la célula frente al daño en el DNA y es responsable de activar las vías apoptóticas para impedir el crecimiento de las células cancerígenas. **Tasquinimod** se ha diseñado para inhibir los factores de transcripción de la HDAC4. Este compuesto es activo vía oral y se encuentra en ensayos de fase III para el tratamiento de cáncer de próstata, mama, colon y vejiga. [71]

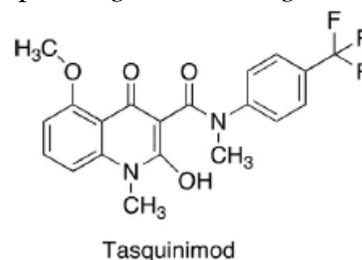
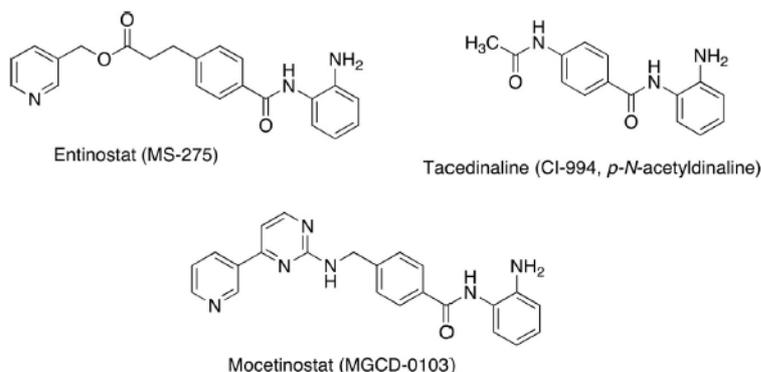


Figura 13. Estructura de tasquinimod [71]

### 5.2.1.5 Benzamidas

Las principales benzamidas sintéticas inhibitoras de HDAC son **entinostat**, **tacedinalina** y **mocetinostat**. Su actividad antitumoral está siendo testada clínicamente para su posible aplicación, solos o en combinación con otros fármacos, en linfoma de Hodgkin, cáncer de pulmón y de mama.



Aunque el mecanismo de acción no está del todo definido, se sabe que la presencia del grupo amino en la posición orto del sistema N-fenilbenzamida es imprescindible para su actividad ya que participa en el anclaje al sitio activo de la enzima para su consecuente inhibición. En el caso de entinostat, la unión al zinc catalítico está demostrada.

Figura 14. Estructura de las benzamidas inhibitoras de HDAC [71]

### 5.2.1.6 Tioles

En este apartado cabe destacar como principal representante, la **pasamplina A**, un producto marino natural con capacidad para inhibir la HDAC. Se trata de un profármaco que requiere activación por reducción de su grupo disulfuro para obtener el correspondiente sulfhidrilo, que es el responsable de la unión al sitio activo de la enzima. Además, cuenta con una oxima que le proporciona una alta potencia y selectividad, aunque no es indispensable y puede ser reemplazada por otros grupos.

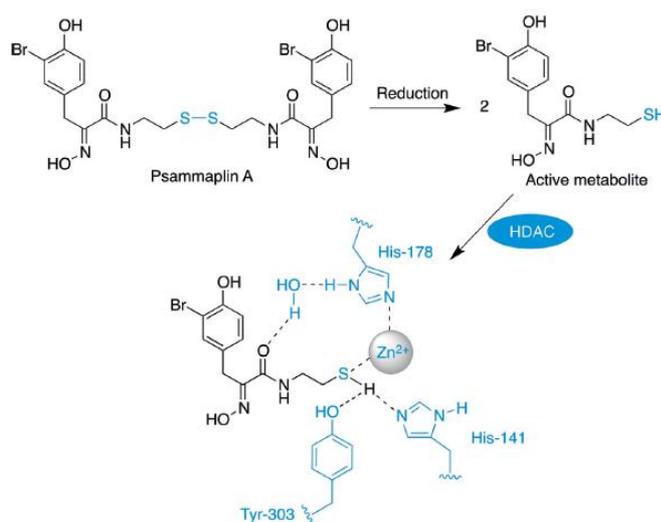


Figura 15. Mecanismo de activación de la pasamplina A y unión del metabolito activo a la enzima [71]

### 5.2.1.7 Inhibidores de sirtuinas

Las sirtuinas (*SIRT*s: *Silent Information Regulators*) pertenecen al grupo de HDAC, concretamente tipo III. A diferencia de las HDAC I, II y IV dependientes de Zn, las sirtuinas son dependientes de NAD y juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis.[\[10\]](#)

Algunos tipos de cáncer pueden desarrollarse por una alteración de estas enzimas. Destaca SIRT1, que tiene la función de regular varios GST como p53, razón por la cual, algunos linfomas, leucemias, sarcomas de tejidos blandos y cánceres de próstata, de pulmón o de colon, se desencadenan por su sobreexpresión (que provoca la represión de los genes supresores de tumores); y SIRT2, que regula un punto de control mitótico G2/M y la estabilidad de la tubulina. El aumento de su expresión puede prolongar significativamente la fase mitótica para prevenir la inducción de inestabilidad cromosómica en respuesta al estrés mitótico causado por inhibidores de microtúbulos. Por esta razón, los tumores con altos niveles de SIRT2 son refractarios a la quimioterapia y necesitan una diana de tratamiento diferente. [\[7\]](#)

**Sirtinol**, **salermida** y **EX527** son inhibidores de sirtuinas cuyo mecanismo de acción consiste en la activación de vías de apoptóticas para provocar muerte de células cancerígenas. Se encuentran en periodo de evaluación preclínica.

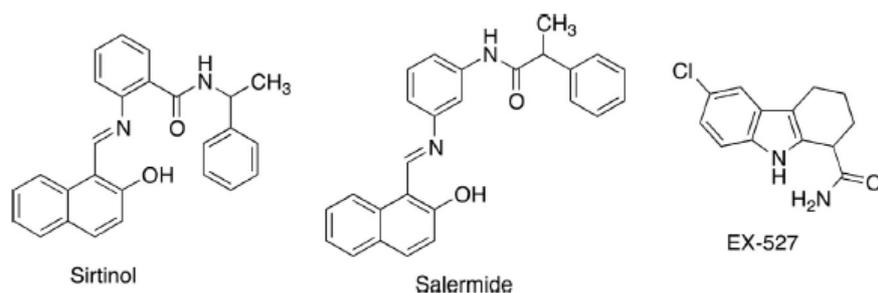


Figura 16. Estructura de los principales inhibidores de sirtuinas[\[7\]](#)

## 5.3 MicroRNAs

Los microRNAs (miRNAs) participan en la progresión y diferenciación celular, apoptosis y otros procesos importantes de la vida celular que pueden alterarse por cambios epigenéticos. [\[5\]](#)

Estudios recientes revelan que algunos miRNAs regulan diversos GST y oncogenes a través de la modulación epigenética. Comparando el perfil de expresión de miRNAs durante un proceso de oncogénesis frente a un crecimiento normal de células, se pueden observar cambios en la proliferación celular y en la apoptosis. Por tanto, los cambios de expresión de miRNAs pueden provocar alteraciones cromosómicas, uniones anómalas a factores de transcripción o alteraciones epigenéticas. En algunos tipos de cáncer encontramos reprimidos miRNAs que suprimen la expresión de genes que promueven el crecimiento celular, en otros, ocurre al contrario y se produce una sobrerregulación de miRNAs que suprimen GST. Así, se puede afirmar que diversos RNAs no codificantes modulan la maquinaria epigenética de forma directa o indirecta, y pueden servir tanto como biomarcadores de procesos biológicos alterados como blancos para terapias dirigidas. [\[6,15\]](#)

Como biomarcadores, gracias a estudios de investigación de expresión diferencial de miRNAs relacionados con la progresión y el comportamiento clínico agresivo de diferentes subtipos de tumores que confluyen en un perfil de metilación de genes que expresan miRNAs como indicador pronóstico de respuesta a quimioterapia.

Como blanco para terapias dirigidas, existen miRNAs sintéticos con capacidad para reprimir oncogenes y activar GST. Su principal limitación es la escasa capacidad de penetración celular, lo cual está conduciendo al desarrollo de nuevos vehículos nanométricos que faciliten la llegada de los miRNAs sintéticos a las células tumorales.

## 5.4 Bromodominios

Los bromodominios son regiones proteicas capaces de reconocer residuos acetilados de lisina en las histonas, funcionan como “lectores” de marcas epigenéticas y atraen proteínas activadoras de genes a esos lugares, jugando un papel crítico en la transcripción de genes. Conocidos como BET (bromodominian and extra-terminal), y destacando el subtipo BRD4 especialmente relacionado con el cáncer, son una nueva diana epigenética ya que una vez unidas a la cromatina, pueden influir en la expresión génica y además están directamente implicadas en la activación de oncogenes como Myc que se encuentra sobreexpresado en múltiples tipos de cáncer. [7]

La cristalografía de rayos X revela que los bromodominios forman un haz característico de cuatro hélices, donde se une el residuo acetilado de lisina, en un bolsillo definido en un extremo del haz helicoidal. Tiene lugar un enlace de hidrógeno entre el átomo de oxígeno del acetilcarbonilo y el grupo NH<sub>2</sub> de la asparragina 140, y otra entre el átomo de oxígeno y el fenol de la tirosina 97. [11]

Debido a la asociación entre estas proteínas y el cáncer, se ha llevado a cabo el diseño de diversos inhibidores de bromodominios con el objetivo terapéutico de disminuir de forma indirecta los niveles de Myc y provocar la muerte de las células tumorales.

### 5.4.1 Inhibidores de bromodominios

Los inhibidores extraterminales de bromodominios (BETi) desplazan a las BRD4 de las regiones superpotenciadoras que regulan la transcripción de oncogenes, impidiendo así su sobreexpresión.

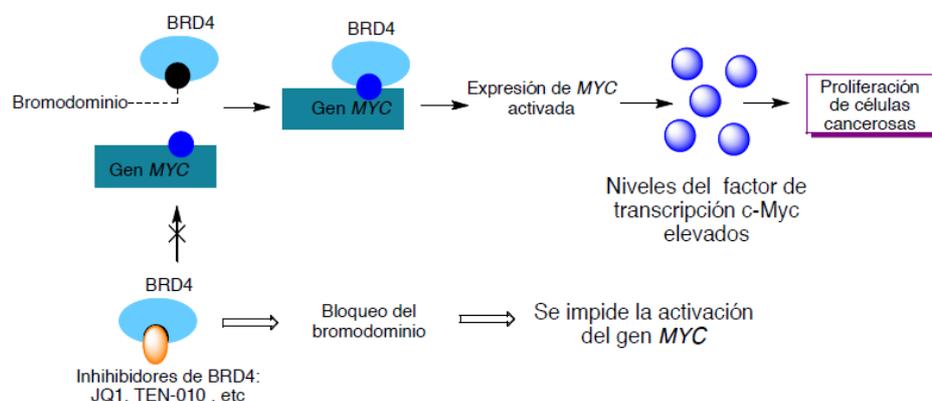


Figura 17. Esquema explicativo de la inhibición de la proteína BRD4 y su consecuencia [12]

La proteína “lectora” BRD4 reconoce e interacciona con los residuos N-acetilados de lisina de las histonas promoviendo el reclutamiento del factor de elongación B transcripcional positivo (P-TEFb) necesario para que la polimerasa II lleve a cabo la elongación del RNAm implicado en la biosíntesis de la proteína c-Myc.

De manera fortuita fue descubierto su primer inhibidor, (+)-**JQ1**, una tieno-triazolo-1,4-benzodiazepina cuyo enantiómero dextrógiro se enlaza de forma selectiva a la proteína BRD4 y la inhibe de forma competitiva. En la difracción de rayos X se observa que la porción de metiltriazol ocupa el lugar de unión de la lisina acetilada y los átomos de nitrógeno contiguos establecen un puente de hidrógeno con la asparagina 140 y la tirosina 97, respectivamente. [12]

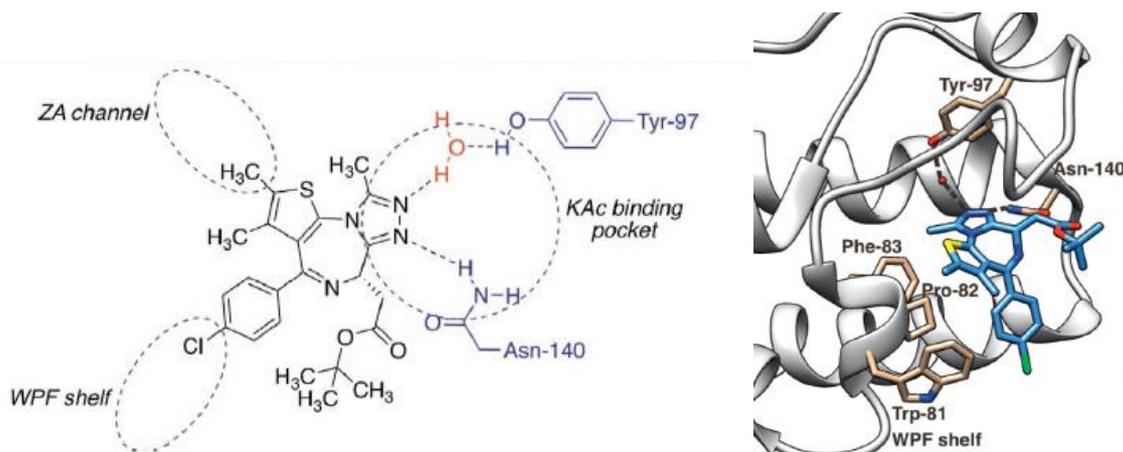


Figura 18. Interacción del inhibidor (+)-JQ1 con el sitio activo de la proteína BRD4 [7]

Este compuesto es capaz de producir diferenciación, detención del crecimiento y apoptosis de células procedentes de carcinoma de línea media (NMC) de la proteína nuclear del testículo (NUT). Este agresivo cáncer se produce por una traslocación que da lugar al oncogen BRD4-NUT el cual se traduce en una proteína lectora que bloquea la diferenciación epitelial y mantiene a la célula en constante proliferación. [11,18]

JQ1 ha demostrado suprimir la transcripción de Myc, estrategia utilizada en el tratamiento de leucemia mieloide aguda (AML), ya que al disminuir los niveles de este oncogen cesa la proliferación descontrolada y comienza la diferenciación celular.

Basándose en la estructura de JQ1, se han desarrollado análogos como **OTX015**, que es un inhibidor competitivo de las proteínas BRD2, BRD3 y BRD4 que se encuentra en ensayos clínicos de fase I y II contra diversas proliferaciones malignas. Y también **I-BET151** (GSK525762A), compuesto que reduce la expresión de los genes Myc, BCL2 y CDK6 y ha demostrado ser eficaz en animales modelo de leucemia de linaje mixto. **TEN010**, cuya estructura se ha desvelado recientemente, es otro compuesto análogo que inhibe BRD4 y se encuentra en ensayos de fase I para el tratamiento de NMC y otros tumores sólidos. [7]

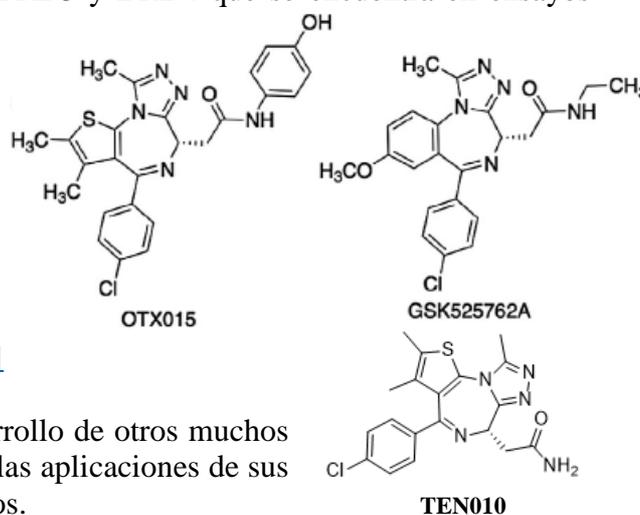


Figura 19. Estructura de los inhibidores análogos a JQ1 [7,12]

El funcionamiento de BRD4 es vital en el desarrollo de otros muchos linfomas y mielomas, por tanto, son numerosas las aplicaciones de sus inhibidores que se encuentran en estudios clínicos.

## 5.5 Metilación de histonas

Las enzimas histona metiltransferasas (HMT) están vinculadas con los procesos de regulación genética y afectan al patrón de expresión génica. Son capaces de modificar los residuos de lisina de las histonas al añadir grupos metilo usando S-adenosilmetionina (SAM) como donador, dando lugar a diversos grados de metilación de las mismas. En numerosos tipos de cáncer se puede observar una sobreexpresión de HMT lo que sugiere considerar estas enzimas como potencial objetivo terapéutico. [6]

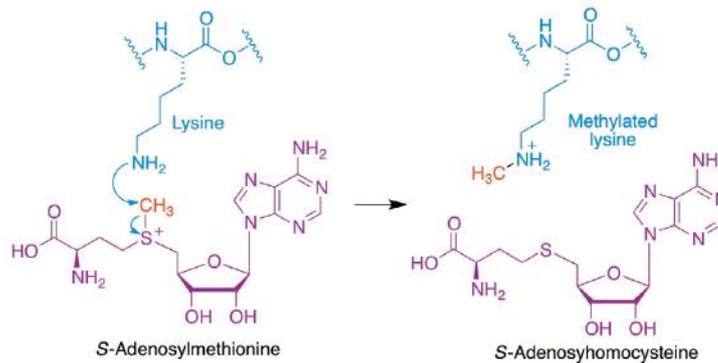


Figura 20. Mecanismo de metilación de una lisina por histonas metiltransferasas utilizando SAM como cofactor [7]

### 5.5.1 Inhibidores de histona metiltransferasas

Los residuos de lisina de las colas de las histonas poseen un grupo amino con carga positiva en condiciones normales. La metilación de dichos residuos de lisina no altera su carga positiva y por lo tanto no suponen un cambio significativo como ocurre en el mecanismo de acetilación de histonas.

Aun así, existen unos “lectores” específicos de proteínas capaces de reconocer esta transformación y reclutar enzimas adicionales cuya actividad puede alterar la cromatina y afectar a la transcripción.

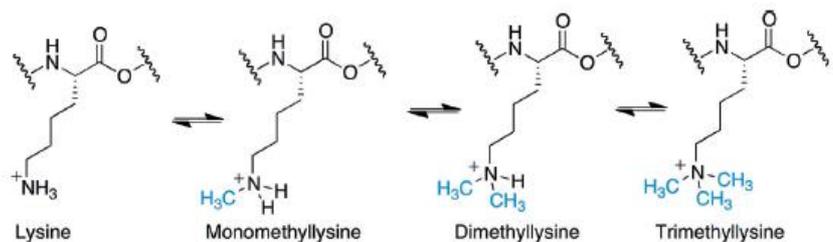


Figura 21. Grados de metilación de lisinas [7]

En múltiples tipos de cáncer se ha encontrado una trimetilación de la histona H3K27 debida a la sobreexpresión de EZH2, enzima que actúa de forma coordinada con la histona metiltransferasa MMSET. Los fármacos descubiertos capaces de inhibir dichas enzimas, **3-deazaneplanocina A** y **BIX 01294** son una nueva promesa para el tratamiento oncológico. [7]

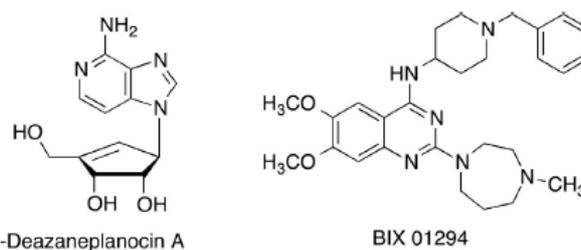


Figura 22. Fármacos inhibidores de histona metiltransferasas [7]

## 5.6 Desmetilación de lisinas

En el control epigenético de diferenciación celular y en el desarrollo y mantenimiento del cáncer también pueden estar implicadas otro grupo de enzimas conocidas como desmetilasas específicas de lisina (LSDs o KDMs), proteínas “borradoras” de grupos metilo dependientes de FAD.

### 5.6.1 Inhibidores de LSD

LSD1 y LSD2 tienen un dominio amino-oxidasa formado a su vez por dos subdominios, uno para la unión al cofactor FAD y otro para la unión al sustrato. Poseen otro dominio, SWIRM, asociado al factor de cromatina, que participa en interacciones proteína-proteína y que podría ser el responsable de la capacidad de estas enzimas de reconocer diferentes sustratos. Los dominios de las LSD comparten homología de secuencia con las monoaminooxidasas (MAO). Por tanto, algunos inhibidores de MAO como la tranilcipromina, también inhiben las LSD.

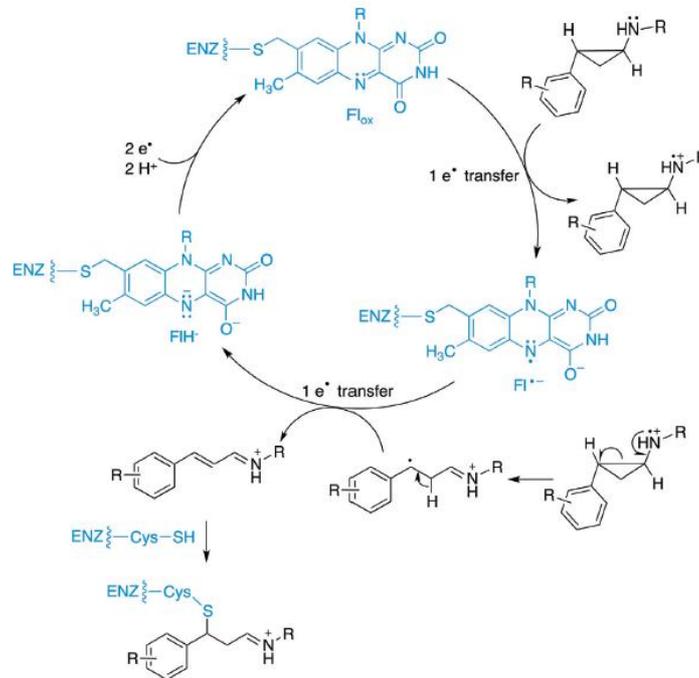


Figura 23. Mecanismo de acción de la tranilcipromina [7]

Para una inhibición más específica se han desarrollado algunos derivados de tranilcipromina que comparten el mismo mecanismo de acción.

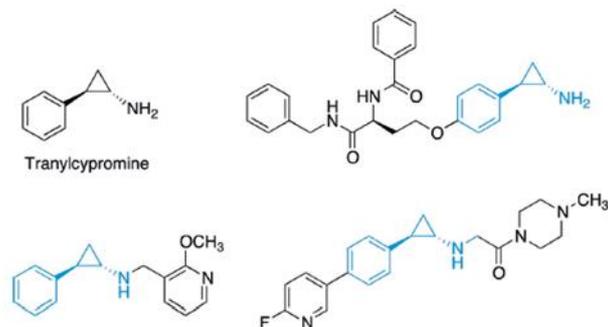


Figura 24. Estructura de la tranilcipromina y sus derivados [7]

## 5.7 TERAPIA COMBINADA

Sabiendo que la oncogénesis puede producirse por la cooperación de diferentes mecanismos epigenéticos, es lógico pensar en la posibilidad de establecer un tratamiento múltiple para combatir el cáncer. Son numerosos los estudios destinados a buscar un aumento de la eficacia clínica de los medicamentos epigenéticos al asociarlos entre sí o incluso, al combinarlos con otras terapias antitumorales.

- **Combinación de medicamentos epigenéticos (iHDAC + iDNMTs)**  
Un alto grado de metilación del DNA está relacionado con una cromatina compacta y desacetilada que limita el proceso de transcripción génica. Además, dificulta la activación de la expresión de genes que producen los iHDAC en monoterapia. Al combinar estos últimos con iDNMT se ha obtenido una mejor respuesta al inducir la expresión de los genes (GST) que se encuentran silenciados (hipermetilados), e inhibir la proliferación y supervivencia de células cancerígenas. Sin embargo, para este resultado han sido necesarias dosis elevadas de ambos fármacos, que van acompañadas de muchos efectos adversos, por tanto, la aplicación combinada de ambos fármacos aún necesita ser perfilada. [\[13,17\]](#)
  
- **Combinación de terapia epigenética y quimioterapia**  
Las investigaciones revelan que los agentes hipometilantes son capaces de revertir la resistencia a los quimioterápicos. El sinergismo entre los inhibidores de DNMTs, como la decitabina, y los agentes antitumorales de platino ha sido demostrado en diversos ensayos clínicos. En uno de ellos, se administró decitabina a un grupo de pacientes que sufrían AML antes de recibir el tratamiento quimioterápico y los resultados fueron significativamente buenos. [\[14,19\]](#)
  
- **Terapia epigenética e inmunoterapia**  
Quizás sea la combinación más prometedora. Investigaciones recientes en diferentes procesos tumorales revelan que al administrar azacitadina con inmunomoduladores se produce un aumento en la expresión génica de interferón, lo que se traduce en una respuesta más favorable frente al cáncer. [\[14,19\]](#)

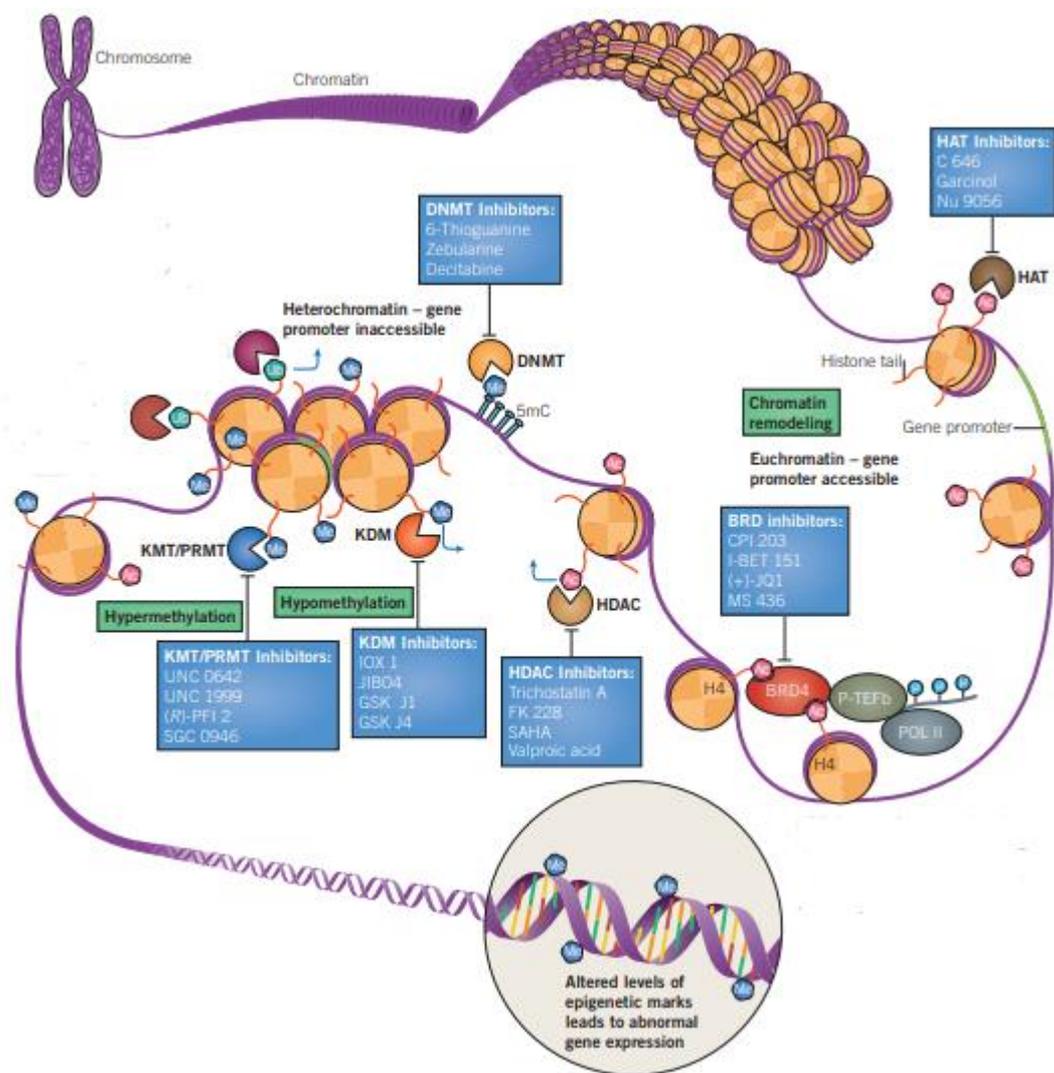


Figura 25. Resumen esquemático de las dianas epigenéticas y los fármacos que actúan en cada una de ellas [5]

## 6 CONCLUSIONES

La terapia epigenética del cáncer está basada en el estudio de los mecanismos moleculares epigenéticos involucrados en el inicio y progresión tumoral, los cuales han demostrado tener un gran potencial para ser empleados como blancos terapéuticos, marcadores clínicos o incluso estrategias de prevención.

Aún queda un largo camino por recorrer, todavía son pocos los fármacos epigenéticos con aplicación antitumoral aprobada. El conocimiento más profundo de las alteraciones del epigenoma en cada tipo de cáncer, permitirá diseñar fármacos más específicos para cada diana, que además puedan ser combinados con otras terapias antitumorales. El gran reto es curar el cáncer estableciendo un tratamiento eficaz más individualizado y con menos efectos tóxicos colaterales.

## 7 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Gonzalo, V., Castellví-Bel, S., Balaguer, F., Pellisé, M., Ocaña, T., & Castells, A. (2008). Epigenética del cáncer. *Gastroenterología y Hepatología*, 31(1), 37–45, DOI:[10.1157/13114573](https://doi.org/10.1157/13114573)
- [2] Esteller, M. (2019). Los fármacos epigenéticos están siendo muy útiles en ciertos linfomas y leucemias. *Correo farmacéutico*.
- [3] Arrowsmith, C. H., Bountra, C., Fish, P. V., Lee, K., & Schapira, M. (2012). Epigenetic protein families: A new frontier for drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 11(5), 384–400, DOI:[10.1038/nrd3674](https://doi.org/10.1038/nrd3674)
- [4] Maury, E., & Hashizume, R. (2017). Epigenetic modification in chromatin machinery and its deregulation in pediatric brain tumors: Insight into epigenetic therapies. *Epigenetics*, 12(5), 353–369, DOI:[10.1080/15592294.2016.1278095](https://doi.org/10.1080/15592294.2016.1278095)
- [5] Biswas, S., & Rao, C. M. (2017). Epigenetics in cancer: Fundamentals and Beyond. *Pharmacology and Therapeutics*, 173, 118–134, DOI:[10.1016/j.pharmthera.2017.02.011](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.011)
- [6] Valdespino-Gómez, V. M., & Valdespino-Castillo, V. E. (2012). Terapia epigenética en el cáncer. Logros y perspectivas. *Cirugía y Cirujanos*, 80(5), 470–480.
- [7] Avedaño, C., Menéndez, J.C., (2015). Epigenetic Therapy of Cancer. *Medicinal Chemistry of anticancer drugs (2 ed.)*, Elsevier, 325-356, DOI: [10.1016/B978-0-444-62649-3.00008-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62649-3.00008-9)
- [8] Acharya, M. R. (2005). Rational Development of Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Agents: A Review. *Molecular Pharmacology*, 68(4), 917–932, DOI: [10.1124/mol.105.014167](https://doi.org/10.1124/mol.105.014167)
- [9] Trabaue-Chávez, M., Panadero-Fajardo, S., Arévalo-Ruiz, M., Domínguez-Seglar, JF., Gómez-Vidal, JA. (2010). Síntesis y evaluación de nuevos inhibidores de las HDAC. *Ars Pharm* 51(3), 541–548.
- [10] Grayson, D. R., Kundakovic, M., & Sharma, R. P. (2009). Is There a Future for Histone Deacetylase Inhibitors in the Pharmacotherapy of Psychiatric Disorders? *Molecular Pharmacology*, 77(2), 126–135, DOI: [10.1124/mol.109.061333](https://doi.org/10.1124/mol.109.061333)
- [11] Conway, S. J. (2012). Bromodomains: Are readers right for epigenetic therapy? *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 3(9), 691–694, DOI: [10.1021/ml300221t](https://doi.org/10.1021/ml300221t)
- [12] Avendaño, C. (2015). BET inhibitors. The odd compound (+) -JQ1. *An. Real Academia Nacional de Farmacia*, 81, 214–220.
- [13] Ellis, L., Atadja, P. W., & Johnstone, R. W. (2009). Epigenetics in cancer: Targeting chromatin modifications. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(6), 1409–1420, DOI: [10.1158/1535-7163.mct-08-0860](https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-08-0860)

- [14] Kelly, A. D., & Issa, J. P. J. (2017). The promise of epigenetic therapy: reprogramming the cancer epigenome. *Current Opinion in Genetics and Development*, 42, 68–77, DOI: [10.1016/j.gde.2017.03.015](https://doi.org/10.1016/j.gde.2017.03.015)
- [15] Mekala, J. R., Naushad, S. M., Ponnusamy, L., Arivazhagan, G., Sakthiprasad, V., & Pal-Bhadra, M. (2018). Epigenetic regulation of miR-200 as the potential strategy for the therapy against triple-negative breast cancer. *Gene*, 641(October 2017), 248–258, DOI: [10.1016/j.gene.2017.10.018](https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.10.018)
- [16] Dawson, M. A., & Kouzarides, T. (2012). Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell*, 150(1), 12–27, DOI: [10.1016/j.cell.2012.06.013](https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.013)
- [17] Benedetti, R., Conte, M., Iside, C., & Altucci, L. (2015). Epigenetic-based therapy: From single- to multi-target approaches. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 69, 121–131, DOI: [10.1016/j.biocel.2015.10.016](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.10.016)
- [18] Ramadoss, M., & Mahadevan, V. (2018). Targeting the cancer epigenome: synergistic therapy with bromodomain inhibitors. *Drug Discovery Today*, 23(1), 76–89, DOI: [10.1016/j.drudis.2017.09.011](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.09.011)
- [19] Jones, P. A., Issa, J. P. J., & Baylin, S. (2016). Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nature Reviews Genetics*, 17(10), 630–641, DOI: [10.1038/nrg.2016.93](https://doi.org/10.1038/nrg.2016.93)
- [20] Bojang, P., & Ramos, K. S. (2014). The promise and failures of epigenetic therapies for cancer treatment. *Cancer Treatment Reviews*, 40(1), 153–169, DOI: [10.1016/j.ctrv.2013.05.009](https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2013.05.009)

*Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia y el/la Tutor/a no se hacen responsables de la información contenida en el mismo.*