

Las HDAC en la regulación de la expresión génica y el cáncer

Alejandro Belmonte Fernández

Resumen—Las HDAC son un grupo de enzimas que desempeñan una función esencial en la regulación de la expresión génica por medio de la desacetilación de histonas. Cuando las HDACs son reguladas erróneamente impiden la expresión de ciertos genes, como los supresores de tumores. En estas circunstancias, las células son especialmente propensas a su conversión en célula cancerosa. Por ello se están desarrollando múltiples medicamentos orientados a la inhibición de las HDAC mal reguladas para así frenar el avance de esta enfermedad.

Palabras Claves—Acetilación, Cáncer, Expresión génica, HDAC, Inhibidores.

1. INTRODUCCIÓN

El genoma de un organismo, es decir, la cantidad total de ADN que posee, codifica la información necesaria para la síntesis de las proteínas que requiere ese individuo para mantenerse. Esta información es heredable, puesto que pasa del organismo a sus descendientes. La información que, por ejemplo una célula, hereda de su progenitora no se limita a la mera secuencia de nucleótidos de sus genes, sino que también incluye numerosos aspectos epigenéticos. La epigenética abarca de un modo general todos los procesos y mecanismos moleculares que afectan a la regulación y expresión de los genes y que, pese a no estar inscritos en la secuencia de ADN, son heredables de unos organismos a otros. Los mecanismos de regulación epigenética más comunes en humanos y en otros mamíferos son la metilación del ADN y, sobre todo, las modificaciones post-traduccionales que pueden presentar las proteínas histonas que se asocian con él, entre las que cabría destacar la fosforilación, la metilación y la acetilación.

2. HAT Y HDAC

De los mecanismos antes citados, la acetilación de histonas juega un papel fundamental en la regulación de la expresión de los genes. Existen unas enzimas denominadas lisina acetiltransferasas (KAT; la K equivale al aminoácido lisina en código de una letra) que se encargan de añadir grupos acetilos a los residuos de lisina de proteínas específicas, como parte del proceso de maduración post-traduccionales que estas sufren hasta llegar a ser activas. Debido a la importancia que tiene este proceso de adición de grupos acetilo en las histonas, las KAT suelen llamarse de modo genérico HAT (histonas acetiltransferasas), pese a que su acción no se restringe de modo exclusivo a esas proteínas.

El proceso inverso al llevado a cabo por las HAT es realizado por las enzimas denominadas lisina desacetilasas

(KDAC), más conocidas como histona desacetilasas (HDAC). Estas enzimas se encargan de la eliminación de los grupos acetilos presente en los residuos de lisina de proteínas concreta, siendo especialmente relevante su papel en la modificación de las histonas. La importancia del proceso de acetilación de histonas radica en que está asociado a la regulación de la transcripción de los genes donde tiene lugar, pues en esos puntos ocurre una importante remodelación de la estructura de la cromatina.

El ADN tiene carga negativa debido a la presencia de enlaces fosfodiéster a lo largo de toda su estructura, mientras que las proteínas histónicas que se asocian a él tienen carga positiva por la abundante presencia de residuos de lisina. Esto hace que entre el ADN y las histonas se creen fuerzas de atracción electrostática que los mantiene unidos y estructuran la cromatina. En aquellas regiones en las que las colas de las histonas asociadas con el ADN están acetiladas se presenta la cromatina en un estado de condensación bajo, más laxa que en otras zonas, lo que permite que entre sin problemas la maquinaria molecular necesaria para la transcripción de genes y, por tanto, puedan transcribirse. Esto se debe a que los grupos acetilo neutrales que se adicionan modifican y reducen la carga positiva intrínseca de los múltiples residuos de lisina que tienen las proteínas histónicas, lo que reduce la afinidad de estas por el ADN y provoca una relajación de la unión histonas-ADN en esas zonas. Por el contrario, en aquellas zonas en las que han actuado enzimas HDAC (por lo tanto carentes de grupos acetilo), la estructura de la cromatina es mucho más compacta, lo que impide que entre la maquinaria transcripcional y, por tanto, anula la expresión de dichos genes. Esto ocurre porque, al eliminarse los grupos acetilo, se restauran las cargas positivas originales de las lisinas de las histonas, con lo que aumentan las interacciones electrostáticas entre estas proteínas y el ADN, compactándose todo el conjunto de la cromatina. Por lo tanto, a modo de resumen, diremos que la hiperacetilación de las histonas se asocia con la expresión de genes, con la activación de la transcripción, mientras que la hipoacetilación de histonas se asocia con la represión o el silenciamiento.

miento de genes, pues se vuelve imposible la transcripción, como se aprecia en la siguiente representación:

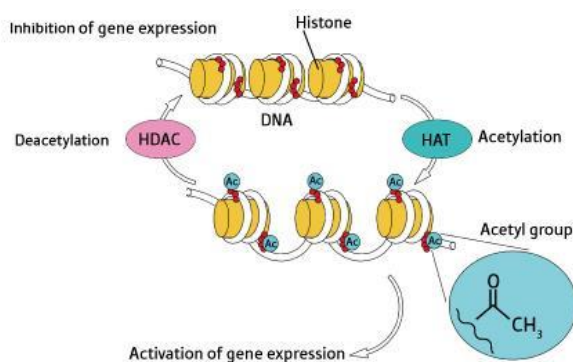


Fig. 1. Regulación de la estructura de la cromatina por parte de las HDAC.

Vemos, pues, que las HDAC pueden regular la expresión génica actuando directamente sobre la cromatina, y afectando por ello a su estructura. No obstante, esta no la única forma en que regulan la transcripción de genes. Otro modo sería mediante la unión directa HDAC - factores de transcripción, tales como STAT3, NF- κ B, p53, TFIIIE, E2f, o la proteína del retinoblastoma, entre otros, alterando así su funcionalidad. También en ocasiones las HDAC se unen a receptores nucleares, en ausencia de ligandos para ellos, y forma así complejos correpresores de la transcripción.

3. CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES BIOLÓGICAS

Las HDAC identificadas hasta el momento se agrupan en cuatro subclases o categorías: clase I, II, III y IV. El criterio de clasificación es la similitud en sus secuencias que presentan estas HDAC en comparación con sus respectivas homologas en levaduras: en estos organismos, la proteína Rpd3 equivale a las HDAC clase I, la Hda1 equivale a las de clase II y las Sir2 se corresponden con las de clase III; (las de clase IV no tienen homólogos reconocidos en levaduras). Las HDAC de los grupos I, II y IV son conocidas como las HDAC "clásicas", mientras que las de tipo III son denominadas *sirtuinas*. Esta diferenciación se basa en que las HDAC clásicas y las sirtuinas poseen diferentes mecanismos catalíticos: las clásicas poseen un "bolsillo" catalítico en cuya base se alberga un átomo de Zn^{2+} necesario para su actividad (ver figura 2); son por tanto enzimas dependientes de Zn , lo que podemos comprobar usando agentes quelatantes de Zn^{2+} , como los ácidos hidroxámicos, que provocan la anulación de su actividad enzimática. En contraste con estas, las sirtuinas poseen un mecanismo catalítico que requiere la presencia de NAD^+ , que actúa como cofactor.

Todas las HDAC desempeñan múltiples funciones celulares de gran importancia. La clase I abarca las HDAC 1, 2, 3 y 8, siendo este último subgrupo de HDAC el menos conocido. Las HDAC 1, 2, 3 forman parte de complejos multiproteicos nucleares cuya principal función es la represión de la transcripción y la participación en procesos de regulación epigenética. También intervienen en los

procesos de proliferación de células madre embrionarias, en la regulación del ciclo celular, en la expresión de los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclina, en ciertas rutas metabólicas y en el desarrollo correcto de órganos como el hígado.

La clase II, que a su vez suele subdividirse en clase IIA (HDAC 4, 5, 7, 9) y clase IIB (HDAC 6, 10), abarca HDACs que, tras ser fosforiladas, desempeñan funciones muy importantes en varias rutas de señalización. Además, regulan el tráfico entre el citoplasma y el núcleo de ciertas proteínas, así como la movilidad celular, la adhesión y la función de las chaperonas.

Con respecto a la clase IV, que tan solo comprende el conjunto de las HDAC 11, poco puede decirse, ya que no se dispone mucha información aun sobre sus funciones y expresión.

Por otro lado, tenemos las sirtuinas (HADC clase III), que, en algunas especies de animales, llevan a cabo funciones tan destacables como el retraso del envejecimiento. Además de su papel en la regulación genética y epigenética del ADN, en la respuesta celular al estrés, en la reparación del ADN, la apoptosis, la regulación del ciclo celular o la proliferación, en los últimos años se ha señalado que estas proteínas podrían participar en los procesos de aprendizaje y formación de memoria puesto que ayudan a mantener y reparar los contactos sinápticos entre neuronas en el cerebro. En este sentido, podrían suponer un factor muy a tener en cuenta en el desarrollo de medicamentos contra el Parkinson, el Alzheimer o la enfermedad de Huntington.

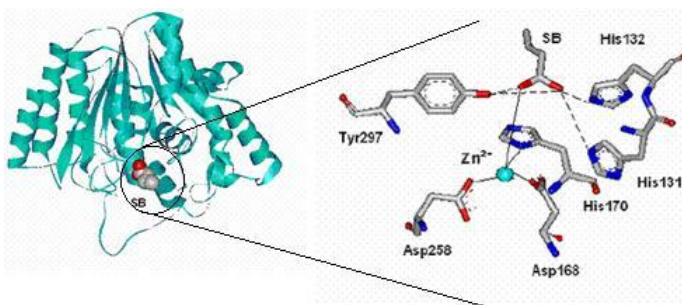


Fig. 2. HDAC clásica con ampliación de su centro catalítico en el que observamos el átomo de Zn^{2+} .

4. HDAC Y CÁNCER

El cáncer es una de las enfermedades que, por su variedad de formas y frecuencia de aparición, centra las investigaciones de científicos de todos los ámbitos y especialidades. De entre los factores que propician su origen, la actividad alterada de las HDAC (y en ciertos casos de las HAT) ocupa un papel que se muestra cada día más importante.

La regulación anormal de la transcripción de ciertos genes es una de las características típicas de los cánceres humanos. Se relaciona con la metilación del ADN y muy especialmente con la acetilación de histonas. En efecto, una

pérdida de acetilación en el residuo de lisina 16 y de trimetilación del residuo 20 (también de lisina), ambos de la histona 4, son acontecimientos que podemos encontrar de manera recurrente en la mayoría de cánceres, pues ocurren en las etapas tempranas de la formación de un tumor. En algunos casos, la desacetilación de histonas no interviene de manera directa en el desarrollo del tumor, pero sí en la expansión y metástasis del mismo.

La disminución de los niveles normales de acetilación de histonas puede deberse tanto a un descenso de la actividad de las HAT (por mutaciones o translocaciones cromosómicas) o a un incremento o alteración en la actividad de las HDAC, siendo esta última causa la más estudiada. Un ejemplo de actividad aberrante de las HDAC lo encontramos en aquellos cánceres en los que, como en la leucemia promielocítica aguda, se producen translocaciones de grandes secciones de genes. Como resultado de estas translocaciones, al transcribir el gen híbrido resultante y traducirlo se obtienen proteínas de fusión que reclutan HDAC para formar así complejos represores de genes. Estos complejos tienden a unirse a los promotores de genes que regulan la diferenciación y proliferación de células mieloides causando una disminución de su expresión y, por tanto, dando lugar al desarrollo del tumor.

En casos como el anterior, la relación que existe entre las HDACs y la formación del tumor no se debe a una alteración de los niveles de expresión de las HDACs sino a que su acción se da en lugares erróneos. No obstante, también se han encontrado numerosos casos en los que estas enzimas se expresan como no deberían, propiciando así la aparición del cáncer. Por ejemplo, un incremento en la actividad de la HDAC1 está presente en cánceres de estómago, de próstata, de colon y de mama; la sobreexpresión de la HDAC2 se da en el cáncer de cuello de útero y de estómago; las HDAC3 y 6 también se expresan de forma anómala en tumores de mama y de colon... La sobreexpresión de estas HDACs, así como su reclutamiento aberrante sobre promotores específicos, provoca en muchos casos la represión de genes supresores de tumores al desacetilar las histonas que estos presentan, induciendo así la compactación de la cromatina de esa zona y por lo tanto el silenciamiento del gen. Esto propicia la aparición y el desarrollo del tumor.

En el cáncer también es importante el papel que desempeñan las HDACs en la acetilación de proteínas no histónicas. Un ejemplo típico de esto lo encontramos en la HDAC1, que actúa sobre el factor supresor de tumores p53 desacetilándolo. Cuando este factor se encuentra acetilado en residuos de lisina concretos, su estabilidad es mayor, favoreciendo el control del ciclo de división celular y la muerte celular en las condiciones en que debe darse. Al ser desacetilado por la HDAC1 en momentos de sobreexpresión de esta, p53 pierde las funciones que hemos señalado, favoreciendo así dos características básicas de las células tumorales: la división descontrolada y la resistencia ante señales pro-apoptóticas.

Las sirtuinas (HDAC clase III), como vimos anteriormen-

te, participan en la regulación de la expresión génica, el crecimiento celular y la proliferación. Por tanto, es de suponer que también tendrán un papel importante en los procesos cancerosos. Una de las familias de este grupo, las SIRT1, regula tanto la acetilación de múltiples factores de transcripción como los niveles de acetilación de las histonas H4 y H3 en el ADN. La relación de estas sirtuinas con el cáncer es un hecho, pues se han observado casos de una expresión excesiva o anómala en cánceres de pulmón, de próstata y en varias leucemias. En estos tumores, los niveles de acetilación de las histonas sustrato de las SIRT1 están alterados, siendo una de las causas directas de la aparición y desarrollo del tumor.

5. INHIBIDORES DE LAS HDAC COMO TRATAMIENTOS ANTICANCERÍGENOS

Con todas las funciones celulares en las cuales las HDAC intervienen, y dado su papel en los procesos cancerosos, uno de los campos de investigación más importantes para los tratamientos contra el cáncer se basa en el desarrollo de moléculas que puedan inhibir la actividad de las HDAC, de tal manera que se recupere la expresión normal de los genes y proteínas afectadas por ella. Compuestos tales como los ácidos hidroxámicos, los ácidos carboxílicos, epóxidos o benzamidas son capaces de interferir en la acción de las HDACs, inhibiéndolas. Los más investigados son, probablemente, los ácidos hidroxámicos. Estos compuestos, como explicamos anteriormente, actúan como agentes quelatantes de Zn^{2+} directamente sobre el sitio activo de las HDACs clásicas, las cuales poseen un átomo de este metal en él, unido con enlaces coordinados a la estructura aminoacídica y necesario para la correcta acción catalítica de la enzima. Entre los fármacos basados en el uso de ácidos hidroxámicos hasta ahora desarrollados podemos destacar por su importancia Vorinostat, que fue el primero de este tipo en ser desarrollado con actividad anticancerígena efectiva, o la Tricostatina A. Seguidamente se representan las fórmulas esqueléticas de ambos compuestos:

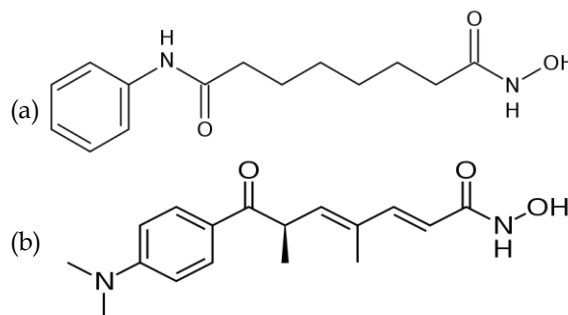


Fig. 3. Fórmulas del Vorinostat (a) y de la Tricostatina A (b).

Ambos medicamentos afectan a la actividad de las HDAC que regulan varios miles de genes en humanos, siendo efectivos para tratar ciertos tipos de tumores en los que determinados genes están silenciados por la actividad anormal de las HDACs. Con estos inhibidores se logra reexpresar en la medida correcta los genes silenciados y, al mismo tiempo, frenar la proliferación celular e inducir

la diferenciación de las células.

Otro efecto de estos inhibidores radica en que las HDACs intervienen en la replicación y reparación del ADN: si se inhibiesen, las células tumorales no podrían reparar su ADN de manera correcta, por lo que serían más sensibles a los tratamientos con quimioterapia que se basan en dañar su material genético.

No obstante, existe cierta problemática entorno al uso de estos inhibidores. Debido a que el sitio activo de las HDACs está altamente conservado de una isoforma a otra, estos inhibidores no tienen una actividad tan específica como se cabría esperar, puesto que en algunos casos inhiben más de un tipo de HDAC de manera simultánea, lo cual podría causar aún más desajustes en la actividad celular.

6. CONCLUSIONES

Como hemos visto, las HDAC intervienen en múltiples procesos celulares relacionados con la regulación de la expresión génica, fundamentalmente. A través de la desacetilación de histonas se logra que el ADN pase a un estado de silenciamiento transcripcional: la cromatina se condensa y por tanto el gen no se expresa. En condiciones normales, esta actividad está controlada por la célula y forma parte de su ciclo habitual; no obstante, existen situaciones en las que la actividad de la HDACs no se regula de un modo correcto, lo que puede traer consigo consecuencias fatales para la célula, como su transformación en célula cancerosa. Por ello, el tratamiento contra el cáncer usando inhibidores de HDACs se perfila como una posible solución de múltiples casos de esta enfermedad. No obstante, aún no se ha profundizado tanto como se debería en este terreno: las investigaciones comienzan a aflorar y se van desarrollando nuevos fármacos orientados a la inhibición de las HDACs, como Vorinostat o Tricostatina A. Sin embargo, debido a la baja especificidad de acción de estos medicamentos, se producen efectos secundarios en las células tratadas que pueden ser bastante severos. Por todo ello, aún queda por delante un prometedor camino en la investigación y perfeccionamiento de nuevos fármacos inhibidores de HDACs más selectivos, que puedan de un modo eficaz y seguro, acabar con las células mutadas propias de un tumor.

REFERENCIAS

- [1] Web de CancerQuest en español. <http://www.cancerquest.org/index.cfm?page=5822&lang=spanish>
- [2] S. Ropero, M. Esteller, "The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer", *Molecular Oncology*, no. 1, pp. 19-25, 7 Mar 2007, doi: 10.1016/j.molonc.2007.01.001.
- [3] O. Witt, H.E. Deubzer, T. Milde, I. Oehme, "HDAC family: What are the cancer relevant targets?", *Cancer Letters*, no. 277, pp. 8-21, 8 May 2009, doi: 10.1016/j.canlet.2008.08.016.

- [4] J. Fraczek, T. Vanhaecke, V. Rogiers, "Toxicological and metabolic considerations for histone deacetylase inhibitors", *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, vol. 9, no. 4, pp. 441-457, Abr 2013, doi: 10.1517/17425255.2013.754011.
- [5] V. Carafa, M. Miceli, L. Altucci, A. Nebbioso, "Histone deacetylase inhibitors: A patent review (2009 - 2011)", *Expert Opinion on Therapeutic Patentes*, vol. 23, no. 1, pp. 1-17, Ene 2013, doi: 10.1517/13543776.2013.736493.
- [6] J.E. Bolden, M.J. Peart, R.W. Jonhstone, "Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors", *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 5, no. 9, pp. 769-784, Sep 2006, doi:10.1038/nrd2133.
- [7] A.J.M. De Ruijter, A.H. Van Gennip, H.N. Caron, S. Kemp, A.B.P. Van Kuilenburg, "Histone deacetylases (HDACs): Characterization of the classical HDAC family", *Biochemical Journal*, vol. 370, no. 3, pp. 737-749, 15 Mar 2003, doi:10.1042/BJ20021321.



Alejandro Belmonte Fernández estudia actualmente el primer curso del Grado en Biotecnología en la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad Pablo de Olavide, en Sevilla.