

TET2: El talón de Aquiles de las células tumorales durmientes.

Andreu Miquel Amengual Tugores

Introducción.

El 26 junio de 2018, un artículo del periódico el País¹ se hacía eco de la publicación del 19 de junio de ese mismo año en la revista científica “The Journal of Clinical Investigation”² en el que un grupo de investigadores ,encabezados por el Dr. Héctor G. Palmer y la Dra. Isabel Puig, identificaban al responsable molecular de la actividad quimiorresistente de las células tumorales durmientes (DCT), el factor celular TET2. En este punto inicial, en el que se contextualiza el presente artículo, hay que plantearse tres preguntas clave: ¿Por qué TET2 juega un papel clave en el perfil quimiorresistente de las DCT? ¿Cómo funciona TET2 y cómo se regula su funcionamiento? ¿Por qué TET2 es el talón de Aquiles de las DCT?

Las DTC o células tumorales de ciclo lento (SCCC) son unidades heterólogas dentro de la matriz de un tumor en cuanto a su comportamiento celular. Esto quiere decir, que contrariamente a la tendencia de las células tumorales normales de dividirse de forma descontrolada, este tipo de células se dividen mucho más lentamente que el resto del tumor, se comportan como las células madre de este y presentan una importante resistencia a los fármacos antineoplásicos.

La importancia de estas SCCC reside precisamente en este fenotipo quimiorresistente. La resistencia a los tratamientos antitumorales por parte de estas células es la responsable directa de la recaída en los cánceres, incluso años después de haberse superado la enfermedad². Además durante las recaídas estas células son las responsables de que el tumor que se desarrolla lo haga con más agresividad, con una mayor probabilidad de desarrollo de metástasis y con la disminución de la eficacia de los tratamientos disponibles³.

Citando a los autores de este artículo: “el conocimiento de la existencia de estas células no tiene relevancia clínica sin elucidar cuál es el mecanismo molecular que impulsa a las SCCC a comportarse de esta manera”. En este contexto, las SCCC tienen la misma dotación genética que el resto del tumor al que pertenecen. Sin embargo, tal y como se ha explicado, estas células presentan un comportamiento celular o fenotipo diferente a las del resto del tumor². Este hecho se traduce en un perfil de expresión génica diferencial por parte de las SCCC y, por tanto, así como dedujeron los autores del artículo, el responsable molecular del comportamiento de estas células debía de ser un factor modulador de la expresión génica, que activaba la expresión de genes que dieran lugar al ciclo celular lento y a la resistencia de fármacos.

Tras el análisis epigenético de las SCCC de distintos tipos de tumores se determinó que la proteína responsable de la resistencia a los fármacos antineoplásicos y del ciclo celular lento era TET2, un enzima epigenético capaz de transformar 5-metilcitosina (5mC) en 5-hidroximetilcitosina (5hmC). Dicha conversión activaba la expresión de los genes responsables del comportamiento celular de las SCCC (Figura 1.). Los autores del artículo identificaron a la 5hmC como biomarcador del aumento de la probabilidad de recaída del tumor, siendo los elevados niveles de este metabolito un indicador de la

presencia de la actividad resistente a fármacos de estas células y haciendo posible que estas sobrevivan al tratamiento aplicado.

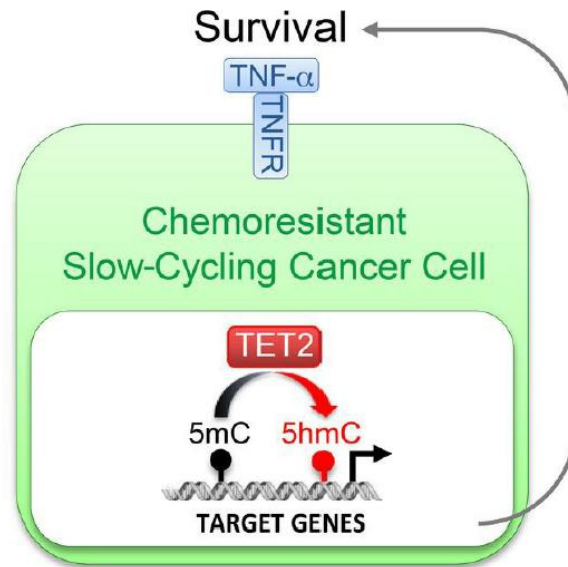


Figura 1. Conversión de 5mC en 5hmC catalizada por TET2. Esta reacción activa la expresión de genes que dan lugar a la quimiorresistencia de las SCCC. La actividad de TET2 también conduce a la activación de cascadas de señalización celular que aumentan la supervivencia celular (en la figura TNF-α y TNFR)².

Estos hallazgos propusieron a TET2 como una diana terapéutica muy importante contra las recaídas de los tumores. Por este motivo el presente artículo se centra en el papel epigenético de TET2 en las SCCC, en el control de la expresión génica, la modulación enzimática de esta proteína y las distintas estrategias terapéuticas que se podrían usar para reducir su actividad.

TET2: una enzima que controla la expresión génica.

Llegados a este punto, se hace imperante profundizar en la función biológica de TET2 para comprender cómo llega a conseguir la quimiorresistencia de las SCCC.

De esta manera, TET2 es una enzima que cataliza la reacción de conversión del nucleótido 5-metilcitosina a 5-hidroximetilcitosina (Fig.2). La 5mC corresponde a una citosina metilada. La citosina es convertida en 5mC por las DNAmilasas(DNMTs) presentes en el núcleo celular⁴. La metilación del DNA constituye una marca epigenética, ya que las interacciones electrostáticas entre estas bases nitrogenadas metiladas y las histonas que forman parte de la cromatina provocan una condensación de esta, y derivan en la inactivación de los genes de las zonas metiladas del DNA.

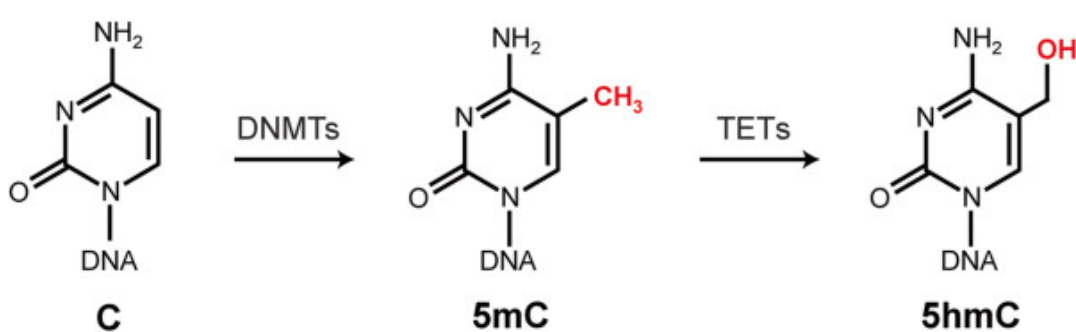


Figura 2. Metilación de la citosina mediada por las DNAmilasas (DNMTs), seguida de la hidroxilación de la 5mC mediada por miembros de la familia de proteínas a la que pertenece TET⁴.

Al catalizar la reacción que elimina la 5mC para dar lugar a la 5hmC las interacciones entre las histonas y DNA se invierten. De esta manera se produce una descondensación de la cromatina, permitiendo que los factores de transcripción asociados a promotores puedan ensamblar la maquinaria transcripcional y promover la expresión de los genes que antes estaban reprimidos⁵. (Fig. 3).

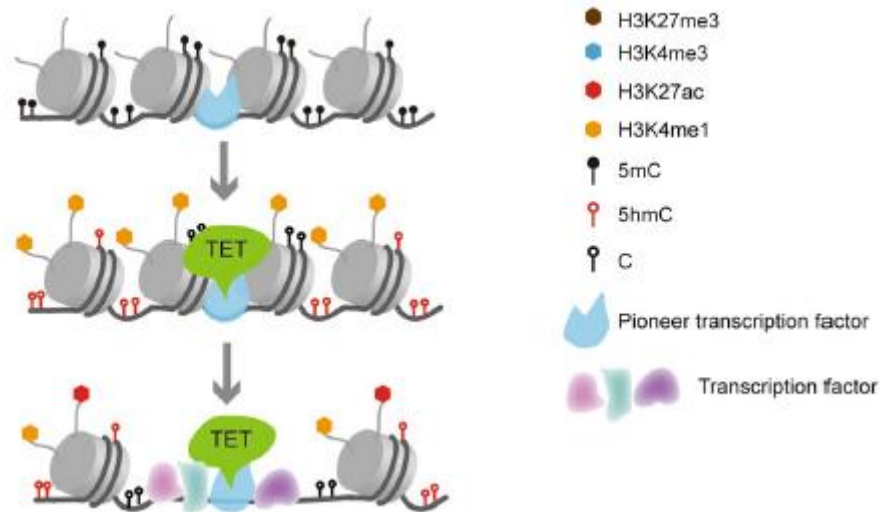


Figura 3. Modulación de la actividad transcripcional mediada por TET. La conversión de 5mC en 5hmC provoca una apertura de la cromatina con la consecuente entrada de la maquinaria de transcripción para la expresión de los genes de la zona descondensada⁵.

Teniendo en cuenta esto, no es de extrañar que TET2 tenga tanta relevancia en el establecimiento del perfil quimiorresistente de las SCCC. Ya que las zonas del genoma que permanecen metiladas en estas células son aquellas cuyos genes están destinados a promover el comportamiento celular de las SCCC. Esto quiere decir que TET2 convierte la 5mC en 5hmC, permitiendo la expresión de estos genes que derivan en que las SCCC progresen hasta la recaída del paciente en la enfermedad, actuando estas como células madre quimiorresistente del tumor y siendo, por tanto, responsable directo de este cambio en el comportamiento celular².

De la misma manera, no es de extrañar que en las conclusiones del artículo de "The Journal Clinical Investigation" se establezca a la 5hmC como biomarcador de mal pronóstico para las recaídas en la enfermedad del cáncer. Una elevada concentración de este nucleótido implica intrínsecamente una elevada actividad de TET2. Por lo que esto se traduce en una elevada tasa de transcripción de genes asociados a la quimiorresistencia de las SCCC².

Regulación de la actividad de TET2.

Una vez conocida la función de TET2 es necesario conocer cómo se regula su expresión génica y su actividad enzimática. Conocer estos aspectos de TET2 implica, conocer a la vez cuáles son los posibles "targets" terapéuticos a los que deberían dirigirse los fármacos que pretendan reducir la actividad de esta enzima, reduciendo paralelamente la quimiorresistencia de las SCCC y evitando que a la larga que se genere un nuevo tumor.

Existen tres niveles de regulación de la expresión y actividad de TET2: regulación a nivel transcripcional, regulación postranscripcional y regulación de la actividad enzimática⁶. (Fig.4).

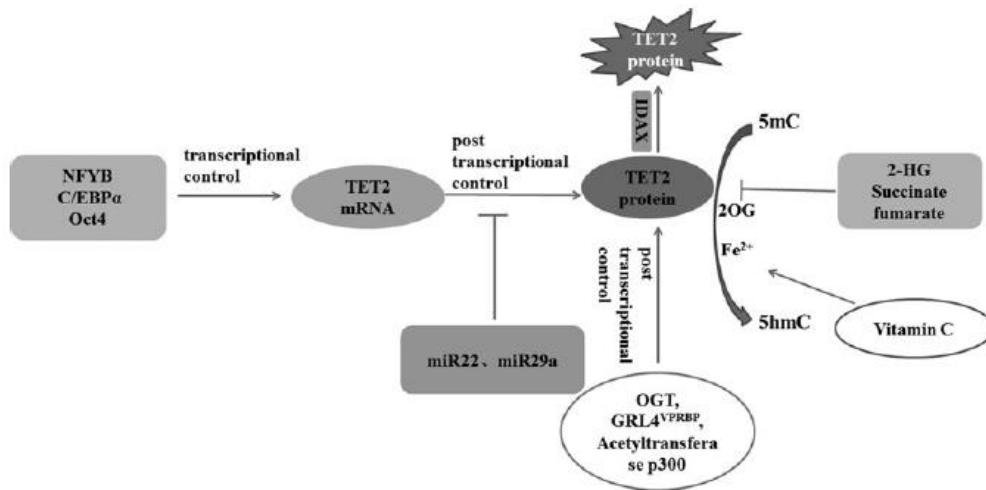


Figura 4. Niveles de regulación de la expresión génica y actividad de TET2. Control transcripcional de la expresión a partir de los factores de transcripción: NFYB, C/EBP A y Oct4. Control post transcripcional a partir de los miR22 y miR29a. Modulación de la actividad enzimática mediante la interacción con enzimas: OGT, GRL4, acetiltransferasa se p300 y IDAX; y mediante el antagonismo de 2-HG, succinato y fumarato⁶.

Regulación transcripcional

La expresión del gen de TET2 depende de factores específicos de la transcripción como son NFYB, C/EBP α Oct4. Cada uno de estos factores de la transcripción esta regulado por su propia via de señalización⁶. Esto significa que estudiando las vías de transducción de señal que conducen a la activación de estos factores de la transcripción se podría modular o inhibir la transmisión del mensaje celular para conseguir una menor expresión de TET2, lo que como consecuencia comportaría una menor hidroxilación de la 5mC del DNA y por tanto una menor expresión de los genes asociados a la resistencia a los fármacos antitumorales.

Regulación postranscripcional

Dos microRNAs (miRNA); miR22 y miR29a; tienen la capacidad de unirse al RNA mensajero que codifica para TET2 y silenciar su traducción. Conseguir una expresión elevada o unos niveles celulares altos de estos miRNA podría suponer una disminución de la síntesis de TET2, con la consecuente disminución del riesgo de recaer en la progresión tumoral, algo que ya se ha conseguido "in vitro"⁷.

Regulación enzimática.

Además, también se puede modular la actividad de TET2 recurriendo a enzimas que actúan sobre esta proteína. Las GlucosaminTransferasas ligadas a Oxígenos (OGT), que han demostrado capacidad para aumentar la actividad de esta enzima. Junto a esta proteína las ubiquitinligasas, y las aciltransferasas p300, también son capaces de modular positivamente a TET2⁶. El control sobre estas tres enzimas también podría ser clave para disminuir conversión de 5mC en 5hmC haciendo posible que se reduzca la posibilidad de que las SCCC dirijan una recaída hacia la formación de nuevos tumores, y a la resistencia a los fármacos quimioterapéuticos.

De la misma manera existe una proteína IDAX que es capaz de reclutar a TET2 y llevarla a la degradación mediada por caspasas⁸. El conocimiento de los mecanismos que regulan la expresión y actividad de IDAX suponen la una diana terapéutica para promover la degradación de TET2 en los las SCCC.

Además, TET2 requiere para su funcionamiento Fe^{2+} como cofactor y α -cetoglutarato como cosustrato. Se ha demostrado que existen 3 inhibidores competitivos de la actividad enzimática de TET2: 2-hidroxiglutarato, succinato y fumarato⁹. Análogos de estos metabolitos que bloqueen la enzima pueden ser una estrategia muy importante a partir de la cual se inactivaría TET2 suponiendo esto la reducción del riesgo de recaída en la enfermedad del cáncer.

Futuras terapias contra las SCCC y TET2.

A día de hoy, las terapias que puedan servir como adyuvantes en la quimioterapia para actuar sobre las SCCC están aun por desarrollar. En tumores hematológicos, factores como G-CSF o el IFN- α , habrían conseguido aumentar significativamente la sensibilidad de las SCCC a la quimioterapia, reduciendo la probabilidad de recaída en el tumor². Sin embargo, la terapéutica en contra de las recaídas en la enfermedad del cáncer va a ir dirigida a los puntos de regulación de la expresión y actividad de TET2 explicados hasta el momento. El único que ha sido probado experimentalmente en estudios preclínicos ha sido: el fármaco TFMB-2hG derivado del 2-hidroxiglutarato como único inhibidor competitivo de la actividad de TET2.

Es por eso por lo que en los próximos años la modulación de TET2 va a constituir el siguiente peldaño en la terapéutica del cáncer. Que pretende reducir la actividad quimiorresistente de las SCCC y disminuir considerablemente la probabilidad de recaída en la enfermedad.

Conclusiones

Considerando todo esto, el descubrimiento de la actividad de TET2 en las SCCC supuso un hito en la investigación contra el cáncer. La conversión de 5mC en 5hmC por parte de esta enzima supone que las células tumorales durmientes se comporten como verdaderas células madre del tumor al que pertenecen, siendo además responsable de su quimiorresistencia y haciendo más probable una recaída del paciente en la enfermedad.

Existen numerosos mecanismos de regulación de la expresión de TET2 a nivel pretranscripcional, postranscripcional y en la modulación de la actividad enzimática. El siguiente peldaño en la terapéutica del cáncer será la modulación de estos puntos de control para poder ejercer una disminución de la actividad quimiorresistente de las SCCC. Estas terapias cuya diana sea TET 2 deben de funcionar como coadyuvantes de la terapia antitumoral estándar. De esta manera se podría reducir la tasa de recaída de los diferentes tipos de tumores. Es precisamente, por todo lo que ha explicado en este artículo por lo que TET2 constituye el talón de Aquiles de las células tumorales durmientes.

Bibliografía

1. EL PAÍS. Investigadores del Vall d'Hebron descubren cómo eliminar las células tumorales durmientes | Cataluña | EL PAÍS. (2018).
2. Puig, I. *et al.* TET2 controls chemoresistant slow-cycling cancer cell survival and tumor recurrence. *J. Clin. Invest.* **128**, 3887–3905 (2018).
3. Sosa, M. S., Bragado, P. & Aguirre-Ghiso, J. A. Mechanisms of disseminated cancer cell dormancy: an awakening field. *Nat. Rev. Cancer* **14**, 611–622 (2014).
4. Pfeifer, G. P., Kadam, S. & Jin, S. G. 5-Hydroxymethylcytosine and Its Potential

- Roles in Development and Cancer. *Epigenetics and Chromatin* **6**, 1–9 (2013).
5. Wu, X., Li, G. & Xie, R. Decoding the role of TET family dioxygenases in lineage specification. *Epigenetics Chromatin* **11**, 58 (2018).
 6. Liu, Y. *et al.* *TET2*: A Novel Epigenetic Regulator and Potential Intervention Target for Atherosclerosis. *DNA Cell Biol.* **37**, dna.2017.4118 (2018).
 7. Li, X. *et al.* Gene silencing of MIR22 in acute lymphoblastic leukaemia involves histone modifications independent of promoter DNA methylation. *Br. J. Haematol.* **148**, 69–79 (2010).
 8. Billy, G. G. Modulation of TET2 expression and 5-methylcytosine oxidation by the CXXC domain protein IDAX. **6**, 790–795 (2015).
 9. Ito, S. *et al.* Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES cell self-renewal, and ICM specification. *Nature* **466**, 1129–1133 (2010).