

LAS BOMBAS DE CALCIO SERCA: SU PAPEL EN LA PATOGÉNESIS TUMORAL E IMPLICACIONES CLÍNICAS*

Eduardo Izquierdo-Torres¹, Dalia Lozano-Arriaga¹, Andrés Hernández-Oliveras² y Ángel Zarain-Herzberg^{1**1}

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México. ²Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

*Autor de correspondencia correo E: zarain@unam.mx

RESUMEN

El ion calcio (Ca^{2+}) es un segundo mensajero que controla una gran variedad de procesos celulares, entre los cuales destacan aquellos que están alterados en células cancerosas. Dentro de las proteínas involucradas en la homeostasis de Ca^{2+} se encuentran las ATPasas SERCA, que lo bombean desde el citosol hacia el lumen del retículo endoplásmico para restaurar el estado de reposo. Los genes SERCA (*ATP2A1-3*) codifican para distintas isoformas funcionales de la proteína. La expresión y/o función de SERCA se encuentra alterada en diversos tipos de cáncer, entre los que se encuentran gástrico, colon, mama, pulmón, tiroides, hígado, oral y próstata, entre otros. Sin embargo, aún se desconocen parte de los mecanismos que controlan la expresión de SERCA tanto en condiciones fisiológicas como patológicas, así como su papel en la carcinogénesis. Entender el rol de SERCA en este proceso podría llevarnos a desarrollar mejores estrategias terapéuticas y de pronóstico para mejorar el tratamiento de los distintos tipos de cáncer.

ABSTRACT

The calcium ion (Ca^{2+}) is a second messenger, which controls a wide variety of cellular processes, among which are those that are altered in cancer cells. One of the proteins involved in Ca^{2+} homeostasis is SERCA ATPase, which pumps it from the cytosol to the lumen of the endoplasmic reticulum to restore the steady state. SERCA genes (*ATP2A1-3*) encode for different functional isoforms of the protein. The expression and/or function of SERCA is altered in various types of cancer, such as gastric, colon, breast, lung, thyroid, liver, oral, and prostate cancer, among others. However, part of the mechanisms that control SERCA expression in both physiological and pathological conditions are unknown, as well as its role in carcinogenesis. Understanding the role of SERCA in this process could lead us to develop better therapeutic and prognostic strategies, to improve the treatment of patients with different types of cancer.

PALABRAS CLAVE:

SERCA, señalización por calcio, cáncer.

KEY WORDS:

SERCA, calcium signaling, cancer.

Señalización por Ca^{2+}

Dentro de los segundos mensajeros utilizados por las células eucariontes, el Ca^{2+} es posiblemente el más importante debido a su versatilidad y a la gama de procesos celulares y moleculares que regula, los cuales van desde la proliferación hasta la muerte celular, pasando por la transcripción, el metabolismo, la contracción muscular, entre otros

(1). La regulación precisa de esta señalización depende de proteínas efectoras que censan, almacenan y transportan continuamente el Ca^{2+} entre compartimentos celulares como el citoplasma, el retículo sarco(endoplásmico) (RE), la mitocondria, el aparato de Golgi, los lisosomas y el espacio extracelular. El sistema de señalización por Ca^{2+} puede dividirse en 4 etapas que se detallan en la Fig. 1 (2).

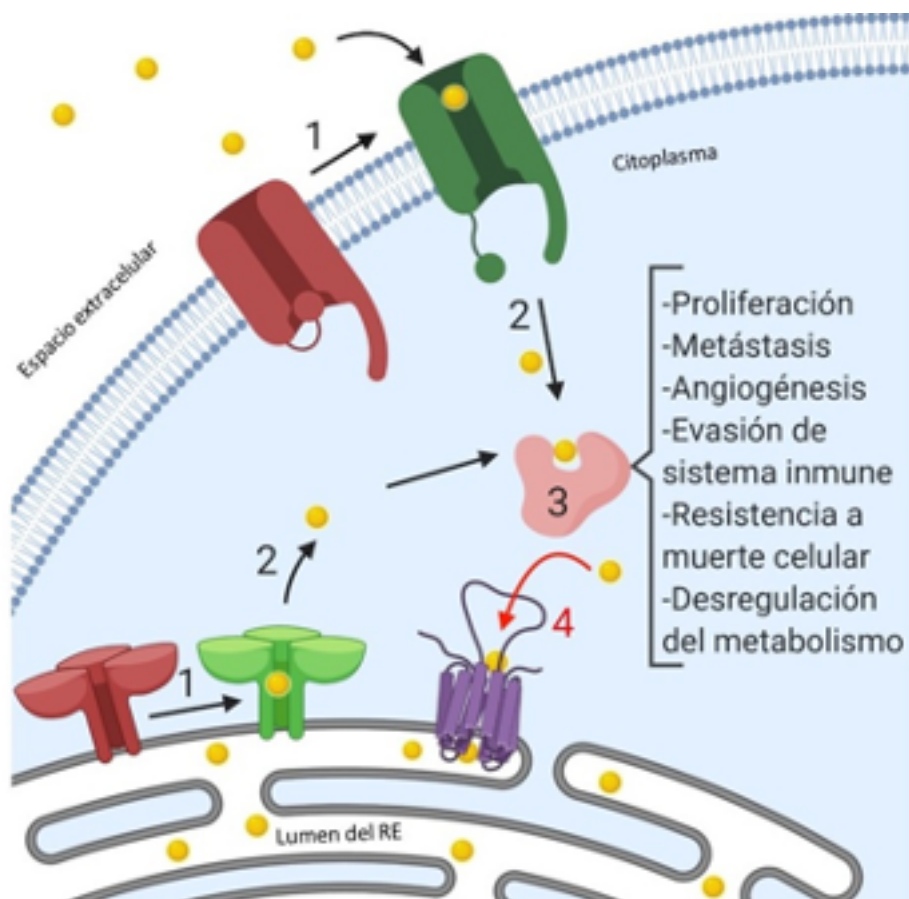


Figura 1. Etapas de señalización mediada por Ca^{2+} . 1) Identificación de un estímulo que genera señales para el transporte de Ca^{2+} a través de la activación de los canales de Ca^{2+} de membrana plasmática y del RE; 2) Los canales activos (verde), permiten el flujo de Ca^{2+} del espacio extracelular y del RE hacia el citoplasma (etapa de activación); 3) Decodificación de la señal por proteínas efectoras de alta afinidad por Ca^{2+} . El aumento en las concentraciones de Ca^{2+} en el citoplasma activa una amplia variedad de vías de señalización dependientes de Ca^{2+} , las cuales pueden estar relacionadas con las características distintivas de las células tumorales; 4) Disminución del Ca^{2+} citosólico para restaurar el estado de reposo (etapa de desactivación). Este transporte, que es mediado principalmente por SERCA (morado), desactiva las vías de señalización dependientes de Ca^{2+} .

En el espacio extracelular, las concentraciones de Ca^{2+} suelen encontrarse entre 1-2 mM, mientras que en el citosol pueden variar entre 10-100 nM en el estado de reposo, o 100-1000 nM en el estado activado. En el lumen del RE, organelo que es el principal reservorio intracelular de Ca^{2+} , su concentración está en el rango de 100-500 μM (3). La activación de un proceso específico depende de la magnitud de la elevación del Ca^{2+} citosólico, así como de la duración de dicho estímulo.

Los componentes del sistema de señalización por Ca^{2+} se pueden dividir en varios grupos (1):

- Receptores de superficie celular: como los receptores acoplados a proteínas G (GPCR, por sus siglas en inglés) y receptores acoplados a cinasas de tirosina (RTK), los cuales unen principalmente a distintas isoformas de la fosfolipasa C (PLC) (1).

- Canales de Ca^{2+} : introducen Ca^{2+} hacia el citosol durante la activación. Están localizados ya sea en la membrana celular o en la membrana de diversos organelos. Los hay de diferentes tipos y tienen funciones específicas en los distintos tipos celulares. Ejemplos de este grupo son los canales operados por voltaje (VOC), el receptor de rianodina (RyR) y el receptor de inositol trifostato (IP3R) (1).
- Bombas e intercambiadores: son responsables de bombear el Ca^{2+} hacia el exterior celular o hacia el interior de organelos; operan en diferentes tiempos durante el proceso de desactivación. La ATPasa de Ca^{2+} del Retículo Sarco(Endo)Plásmico (SERCA) y la ATPasa de Ca^{2+} de la membrana plasmática (PMCA), así como el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ son ejemplos de este grupo (4).

- Amortiguadores de Ca^{2+} : son proteínas de unión a Ca^{2+} que se encuentran tanto en el citosol como en el interior de organelos. Permiten almacenar grandes concentraciones de Ca^{2+} para una señalización más rápida y eficiente. La calsecuestrina y la calreticulina son ejemplos de este grupo (2).
- Sensores de Ca^{2+} : son proteínas que activan diferentes vías de señalización en respuesta a la detección de cambios en las concentraciones de Ca^{2+} en un rango muy amplio. La calmodulina y la molécula de interacción estromal (STIM1) son ejemplos de este grupo (4).

Las alteraciones en la señalización por Ca^{2+} pueden ser el motor para el desarrollo de muchas patologías, como enfermedades cardíacas, neurológicas y cáncer (5).

Las bombas SERCA

Las bombas SERCA son ATPasas de tipo P que tienen como función principal mantener concentraciones citosólicas de Ca^{2+} bajas, mediante el bombeo (a través de la hidrólisis de ATP) de éste hacia el lumen del RE. Los genes *ATP2A1*, 2, y 3 codifican en humanos para distintas isoformas de las proteínas SERCA1, 2 y 3, respectivamente (6). Su expresión es regulada tanto por tipo de tejido como por estadio del desarrollo (7). Las isoformas de SERCA1 (a y b) se expresan en músculo esquelético de contracción rápida, SERCA1a en adultos y SERCA1b en neonatos (8); además, existe una tercera isoforma, SERCA1 truncada (S1T) que es inducida bajo condiciones de estrés del RE (6); SERCA2 tiene 4 isoformas (a-d) que se expresan preferentemente en músculo esquelético de contracción lenta, corazón, músculo liso, neuronas y células hematopoyéticas. SERCA2b es la única isoforma que se expresa constitutivamente en todos los tipos celulares y es co-expresada junto con las isoformas específicas de tejidos (9, 10). SERCA3 tiene 6 isoformas (a-f) que se expresan en tejidos epiteliales y endoteliales, páncreas, tracto gastro-intestinal, tracto respiratorio, timo, bazo, médula ósea, células hematopoyéticas, células de Purkinje del cerebelo, entre otros (11). Todas las isoformas son funcionales y se diferencian entre ellas en el extremo carboxilo terminal, pues la edición alterna del RNA mensajero (RNAm) se da en el extremo 3' (Fig. 2A). Su peso molecular aproximado es de 110 KDa (5). Sin embargo, a pesar del gran parecido en la secuencia de aminoácidos entre las diversas isoformas, sus propiedades bioquímicas son distintas. Por ejemplo, las isoformas de SERCA2 tienen una afinidad por

Ca^{2+} ($K_{0.5} = 0.1 - 0.2 \mu\text{M}$) aproximadamente 6 veces mayor que las isoformas de SERCA3 ($K_{0.5} = 1.2 - 1.6 \mu\text{M}$); no obstante, las isoformas de SERCA3 tienen una velocidad de transporte de Ca^{2+} mayor (12), sugiriendo que cada isoforma se activa en un momento determinado y que no tienen redundancia funcional (Fig. 2B y 2C).

La actividad de las enzimas SERCA puede regularse a muchos niveles. Se han reportado diversas modificaciones postraduccionales que regulan la actividad de SERCA2, entre las cuales se encuentran la glicosilación, acetilación, fosforilación, sumoilación, glutationilación, O-GlcNAcilación, entre otras (5); también se han descrito interacciones de SERCA con proteínas como Bcl2 y p53, ésta última es capaz de unirse directamente a SERCA a través de su extremo carboxilo terminal. Esta interacción física cambia estado oxidativo de SERCA a través de la disminución de la sulfonación de un residuo de cisteína, provocando aumento en el Ca^{2+} en el RE. La sobrecarga de Ca^{2+} en el RE favorece su transferencia a la mitocondria, lo cual conduce a apoptosis. Se ha observado que la inhibición farmacológica de p53 o la presencia de p53 no funcional por mutaciones sin sentido, inhiben la actividad de SERCA (13, 14). También existen péptidos endógenos como fosfolamban y sarcolipina que inhiben la actividad de SERCA 1 y 2. Por otro lado, se ha reportado que la calreticulina regula específicamente la actividad de la isoforma SERCA2b, ya que esta última, a diferencia de SERCA2a, tiene su extremo COOH - terminal mirando al lumen del RE (15).

Generalidades sobre el cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades que comparten características comunes, siendo la principal el crecimiento celular anormal. Esta característica le permite a las células tumorales ser independientes y móviles, permitiéndoles viajar grandes distancias y colonizar órganos distintos del cual se originaron (16).

En uno de los artículos más importantes en el campo del cáncer, Hanahan y Weinberg enlistaron y explicaron las características que comparten las células cancerosas, las cuales les confieren grandes ventajas de supervivencia en comparación con las células normales. Estas características distintivas son:

- Señalización proliferativa sostenida
- Evasión de supresores del crecimiento
- Invasión y metástasis
- Inmortalidad replicativa
- Inducción de angiogénesis
- Resistencia a la muerte celular

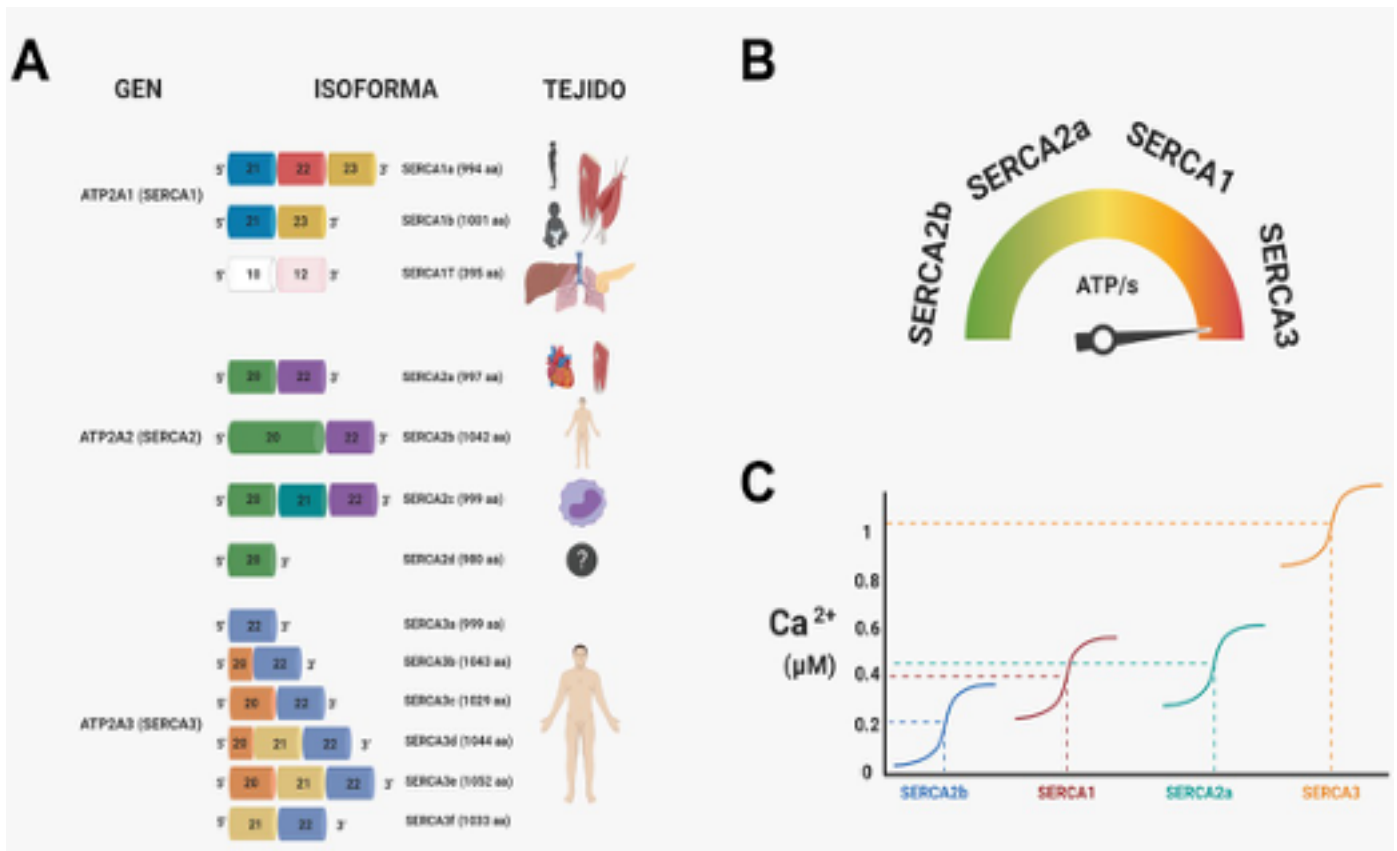


Figura 2. Isoformas y propiedades bioquímicas de las enzimas SERCA. A) Los genes ATP2A1, ATP2A2 y ATP2A3 generan distintas isoformas funcionales de SERCA, las cuales difieren entre sí en su extremo carboxilo terminal. Todas las isoformas tienen un peso molecular aproximado de 1000 kDa, con excepción de SERCA1t, la cual es una isoforma trunca que si bien no se ha demostrado que pueda bombear Ca^{2+} , es altamente expresada en condiciones de estrés del RE. Las distintas isoformas presentan diferentes propiedades bioquímicas a pesar de su similitud estructural. B) La velocidad de transporte de Ca^{2+} es mayor en las isoformas de SERCA3, mientras que la que presenta una velocidad menor es SERCA2b. C) La afinidad por Ca^{2+} también varía, mientras que SERCA2b tiene una $K_{0.5} = 0.2 \mu M$, las isoformas de SERCA3 promedian una $K_{0.5} = 1.2 \mu M$, por lo cual se puede inferir que SERCA2b se encuentra activa de manera constitutiva, mientras que SERCA3 se activa cuando la $[Ca^{2+}]$ citosólico es elevada, durante la etapa de activación.

- Evasión del sistema inmune
- Desregulación del metabolismo energético

Adicionalmente, propusieron a las mutaciones e inestabilidad genómica, así como a la inflamación crónica, como procesos o mecanismos que permiten el desarrollo de tumores y favorecen la aparición de las 8 características anteriores (17).

El cáncer es, además, un problema de salud pública tanto en México como a nivel mundial (Fig. 3). Su incidencia y mortalidad se encuentran en aumento por razones bastante complejas. El cáncer es una enfermedad que en mayor proporción afecta a personas adultas, siendo el envejecimiento un factor de riesgo reconocido para el desarrollo del cáncer, ya que este proceso fisiológico afecta varios mecanismos celulares importantes, provocando deterioro de proteínas y acumulación de daño al

DNA. Por lo tanto, el incremento en la incidencia del cáncer está relacionado con el aumento en la esperanza de vida a nivel mundial, así como con crecimiento de la población; además, la prevalencia y distribución de los distintos factores de riesgo conocidos contribuyen a este fenómeno (18).

De manera general, el cáncer de mama es el tipo de cáncer más común en mujeres, ocupando el 30% del total de nuevos casos diagnosticados; mientras que en hombres es el cáncer de próstata, con el 20%. Sin embargo, el cáncer de pulmón y bronquios es el que tiene una mortalidad más alta en ambos sexos, con 24 y 23%, respectivamente (19).

En México, solamente en el año 2018 se diagnosticaron 190,667 nuevos casos de cáncer, de los cuales 85,616 correspondieron a hombres y 105,051 a mujeres. Los tipos de cáncer más comunes en

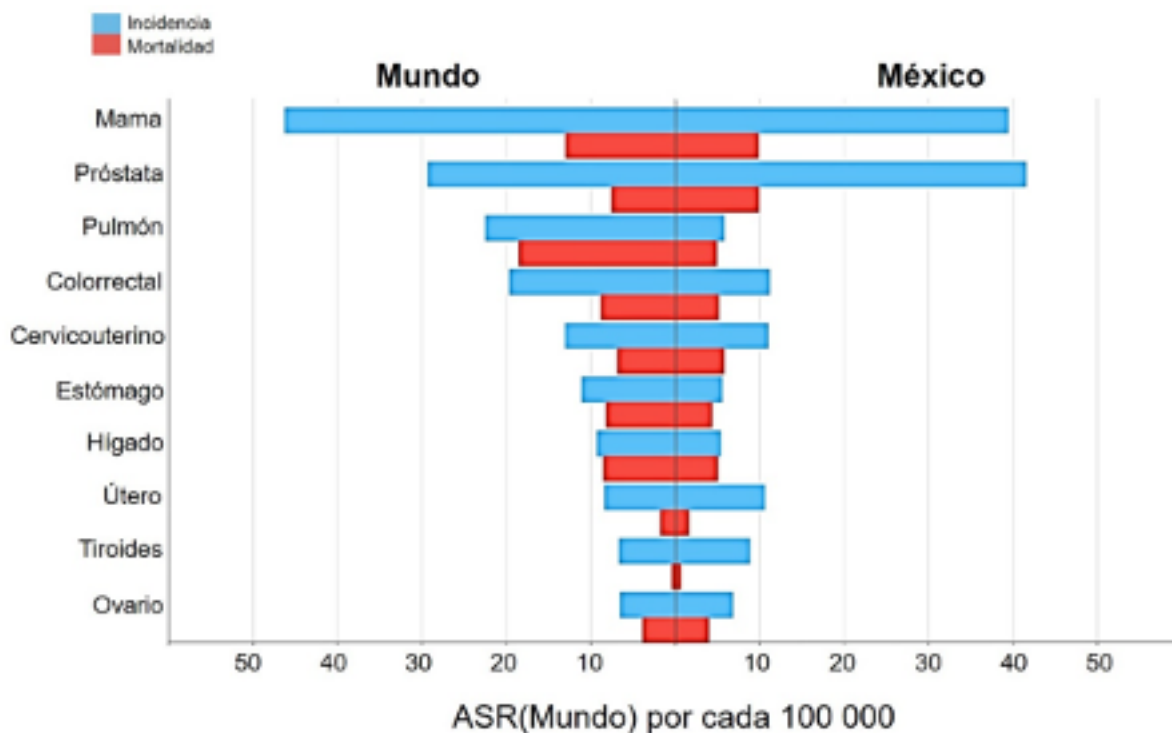


Figura 3. Incidencia y mortalidad de los 10 principales tipos de cáncer en México y a nivel mundial. Los datos fueron tomados de la base de datos de GLOBOCAN, y muestran la incidencia y mortalidad en ambos sexos y en personas con un rango de edad de 0-79 años por cada 100 mil habitantes, de los 10 tipos de cáncer más prevalentes a nivel mundial y en México durante el 2018.

hombres fueron de próstata (29.3%), colorrectal (9.1%), testicular (5.4%), pulmón (5.3%) y de estómago (4.6%); en el caso de las mujeres, los más comunes fueron de mama (26%), tiroides (9.7%), cérvico-uterino (7.5%), útero (6.9%) y colorrectal (6.8%) (18).

La mortalidad es un aspecto importante al hablar de cáncer, ya que el pronóstico varía dependiendo del estadio en que sea detectado, por ejemplo; la supervivencia a los 5 años en un paciente con diagnóstico de carcinoma de colon temprano, es de aproximadamente el 90%, mientras que en un carcinoma avanzado ésta se reduce a menos del 10%. En el caso del cáncer de próstata, los tratamientos son menos efectivos en el carcinoma avanzado que cuando se detecta en etapas tempranas. Por ejemplo, la tasa de mortalidad a 5 años es del 98% para el cáncer diagnosticado en estado avanzado, a diferencia del diagnóstico temprano, donde la mortalidad a 5 años es del 30%.

Evidencias de la alteración de las enzimas SERCA en el cáncer

Ya que la señalización por Ca^{2+} esté involucrada en la regulación de prácticamente todas las ca-

racterísticas del cáncer (3), no resulta sorprendente que se haya propuesto una función importante de la bomba SERCA en la patogénesis tumoral; y efectivamente se han detectado alteraciones en la expresión de SERCA en diversos tipos de tumores.

La primera evidencia de la relación entre las enzimas SERCA y el cáncer se dio mediante el uso de tapsigargina (Tg), un inhibidor específico de las enzimas SERCA, donde se observó que su aplicación promovía la formación de tumores en la piel de ratones (20), así como la activación de las vías de señalización de la cinasa de serina/treonina Raf-1 y de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), las cuales están asociadas con cáncer (21). Posteriormente, ya de forma directa, se encontró que los ratones con una sola copia funcional del gen de la enzima SERCA2 (*ATP2A2*), desarrollaban cáncer a edad avanzada en células escamosas de estómago, esófago, mucosa oral, lengua y piel (22).

Cáncer gástrico y de colon

Una de las primeras evidencias de la alteración de SERCA en estos tejidos, fue que la expresión de SERCA3 se encuentra disminuida en distintas

líneas celulares de cáncer gástrico y de colon, en comparación con células no neoplásicas (23). Además, la disminución de la expresión de SERCA3 es un evento temprano de la carcinogénesis de colon y dicha disminución está vinculada con el aumento en la señalización de la vía de Adenomatous Polyposis Coli (APC)/ β -catenina/Factor de transcripción 4 (TCF4) (también conocida como vía de Wnt), la cual está involucrada en el desarrollo de varios tipos de cáncer, principalmente de colon (24); estos hallazgos han llevado a proponer a SERCA3 como un marcador de diferenciación en cáncer de colon.

Reforzando la anterior propuesta, en el laboratorio hemos demostrado que la inducción de diferenciación en líneas celulares de cáncer gástrico KATO-III, y de colon Caco-2, a través del tratamiento con butirato de sodio (NaB) o del contacto por confluencia, activa la expresión de SERCA3 tanto a nivel de RNAm como de proteína, siendo esta activación dependiente de la interacción de los factores de transcripción Sp1, Sp3 y KLF4 con el promotor proximal del gen *ATP2A3* (25).

De manera adicional a los mecanismos transcripcionales mencionados anteriormente, en el laboratorio hemos estudiado los mecanismos epigenéticos como participantes en la regulación de la expresión de los genes SERCA. La expresión de *ATP2A3* en estas líneas celulares es controlada por metilación del DNA. Este mecanismo está involucrado en el silenciamiento de los genes a través del reclutamiento de represores transcripcionales, y de la interferencia con la unión de factores de transcripción que activan la transcripción. El tratamiento con 5-azacitidina, un inhibidor de DNA metiltransferasas (DNMTi), induce la expresión de SERCA3, disminuyendo parcialmente el estado de metilación de su promotor, que se encuentra altamente metilado en condiciones normales de cultivo (26).

Otro mecanismo epigenético son las modificaciones postraduccionales de las histonas (MPT), las cuales empaquetan el DNA y regulan su función dependiendo de las MPT que presenten. Las Desacetilasas de Histonas (HDAC), están involucradas en el silenciamiento transcripcional a través del remodelaje en la estructura de la cromatina; la tricostatina A (TSA), un inhibidor de HDAC (HDACi), es capaz de inducir la expresión de SERCA3 (26). La expresión deficiente de SERCA3 en cáncer de colon conduce a una pérdida de la homeostasis de Ca^{2+} (23, 25), lo cual puede facilitar el proceso de carcinogénesis. Incluso se ha reportado que la actividad de SERCA es importante en la regulación de la actividad de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina. Se ha observado que la disminución en

la actividad de SERCA provoca la retención de la E-cadherina en el RE debido a las bajas concentraciones de Ca^{2+} , lo cual a su vez impide que β -catenina migre hacia el núcleo para activar la transcripción de sus genes blanco (27).

Los datos para SERCA2 han mostrado un patrón opuesto, ya que existe evidencia de que la sobreexpresión de SERCA2 promueve proliferación y migración de células SW480 (adenocarcinoma de colon) mediante la activación de las vías señalización de MAPK y de la proteína cinasa B (PKB, también conocida como AKT) (28). En pacientes con cáncer de colon, se ha observado que la expresión del RNAm que codifica para SERCA2 se encuentra aumentado con respecto a tejidos no cancerosos. Además, en tejidos de pacientes con cáncer colorrectal que presentan alta expresión de SERCA2, se ha observado mayor invasión a la capa serosa, ganglios linfáticos, metástasis y peor supervivencia en general, lo que indica que SERCA2 pudiera servir como un marcador molecular en la progresión de cáncer de colon.

Cáncer de mama

En líneas celulares de cáncer de mama, hemos observado que la expresión de SERCA3 correlaciona de manera inversamente proporcional al subtipo de cáncer (las células menos diferenciadas presentan niveles menores de SERCA3), y que su inducción farmacológica disminuye la viabilidad celular e induce apoptosis; comprobando la importancia de SERCA3 en el proceso apoptótico, ya que su silenciamiento mediante RNA de interferencia (RNAi) previene parcialmente la apoptosis inducida por los fármacos (29). Algunos HDACi como NaB y TSA, disminuyen la viabilidad celular e inducen selectivamente la expresión de SERCA3 en una manera dosis dependiente, sin afectar la expresión de SERCA2 (30).

También hemos observado que fitoestrógenos presentes en la dieta, como el resveratrol (RSV), y que han sido asociados con quimio prevención de varios tipos de cáncer, como el de mama, modulan positivamente la expresión de SERCA3, induciendo cambios en la homeostasis intracelular de Ca^{2+} y muerte celular, ayudándonos a vislumbrar los mecanismos por los que estas moléculas actúan. Hemos observado que una vez más, los mecanismos epigenéticos están involucrados en la regulación de la expresión de SERCA, esta vez mediada por RSV. La acetilación de histonas en residuos específicos de lisina, al contrario de su desacetilación, correlacionan con la activación transcripcional, y particularmente observamos que la marca de eucromatina H3K27ac, así como HDAC2 en su región

promotora proximal participan en la regulación de este gen en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231, y que el tratamiento con RSV disminuye la presencia de HDAC2 y aumenta la de H3K27ac en esta región del promotor, permitiendo un ambiente propicio para la transcripción del gen (31). Sin embargo, a diferencia del cáncer gástrico y de colon, en cáncer de mama la metilación del promotor no parece jugar un papel importante, ya que los primeros 300 nucleótidos del promotor de *ATP2A3* se encuentra hipometilado en condiciones normales de cultivo (31).

Cáncer de hígado y pulmón

Las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} regulan varias funciones hepáticas, entre ellas se encuentran la secreción biliar, el metabolismo de la glucosa, la proliferación y la muerte celular (32). Utilizando un modelo de carcinoma hepatocelular de rata, descubrimos que las células neoplásicas presentan una disminución dramática de la expresión de SERCA3, comparada con los niveles de expresión en hígado normal. El uso de HDACi induce la expresión de SERCA3, a través del enriquecimiento de las marcas de eucromatina H3K9ac y H3K27ac. Se observó que la acetiltransferasa p300, la cual es responsable del establecimiento de diversas marcas de eucromatina, se encuentra presente en el promotor del gen *ATP2A3* cuando las células de carcinoma hepatocelular son tratadas con HDACi, y que el uso de un inhibidor de p300 (C646) previene la inducción de la expresión de *ATP2A3* por HDACi, así como la acumulación de marcas de eucromatina (32).

En pulmón, se ha observado que la expresión de SERCA3 se encuentra disminuida tanto en líneas celulares cancerosas como en tejido de pacientes con cáncer, mientras que su expresión incrementa conforme avanza la diferenciación celular, encontrándose altos niveles de SERCA3 en células totalmente diferenciadas de epitelio bronquial normal (33). En un estudio realizado por Bergner et al, se demostró que en cáncer de pulmón de células pequeñas o microcítico, y adenocarcinoma de pulmón, el contenido de Ca^{2+} en el RE se redujo en comparación con las células de epitelio bronquial normal. El contenido reducido de Ca^{2+} correlacionó con una expresión reducida de SERCA2; asimismo, observaron una expresión aumentada del IP_3R y una expresión reducida de calreticulina, evidenciando de este modo las alteraciones en la homeostasis intracelular de Ca^{2+} entre el cáncer de pulmón y las células epiteliales bronquiales normales (34). Se ha observado también que el *3,4,5,4'-trans-tetramethoxystilbene*

(TMS), un análogo del RSV, mostró afinidad de unión con SERCA en células de carcinoma pulmonar no microcítico resistente al gefitinib (un fármaco inhibidor de cinasas de tirosina utilizado para el tratamiento de varios tipos de cáncer). Esta molécula fue capaz de inhibir el crecimiento de las células tumorales, aunque en este artículo no se especifica cuál o cuáles son las isoformas de SERCA que se inhiben por TMS (35).

Cáncer de próstata y tiroides

Vanoverberghe et al., mostraron que la diferenciación neuroendocrina en células de cáncer de próstata se asoció con la resistencia a la apoptosis, probablemente debido a la disminución del llenado del depósito de Ca^{2+} en el RE, causado por la baja expresión de SERCA2 y calreticulina (36). Por otro lado, Crépin et al mostraron que la línea celular normal de próstata humana inmortalizada, PNT1A, aumenta su proliferación con prolactina a través de un mecanismo mediado por las cinasas Janus (JAK) y por el transductor de señales y activador de la transcripción (STAT5) que involucra el aumento del Ca^{2+} en el RE, esto debido a la sobreexpresión de SERCA2b. El silenciamiento de SERCA2 con RNAi disminuyó la proliferación inducida por prolactina (37).

En tiroides, el tipo papilar es un cáncer bien diferenciado que se caracteriza por presentar arquitectura papilar y cambios nucleares típicos, como aumento en el tamaño del núcleo, con irregularidad del contorno, la cromatina es clara y se encuentra marginada a la periferia, esto refleja que su estructura no difiere tanto de las células normales y tiende a crecer y diseminarse más lentamente que las células cancerosas indiferenciadas. Todas estos aspectos confieren un mejor pronóstico; sin embargo, se ha observado que conforme esta diferenciación se pierde, surge la transformación a un cáncer de tiroides de tipo anaplásico, los cuales son de peor pronóstico (aproximadamente un 25% de los pacientes con carcinomas anaplásicos tienen un antecedente de carcinoma tiroideo bien diferenciado), esta patogénesis correlaciona con SERCA2 ya que se ha visto que la disminución en su expresión en líneas tumorales de tiroides se ha asociado principalmente con pérdida de la diferenciación (38). En un artículo publicado recientemente por Li y colaboradores se estudió el papel de SERCA en la apoptosis inducida por curcumina en células de cáncer de tiroides BCPAP (tipo papilar), y mostraron que la curcumina inhibe a la SERCA2 de manera dosis dependiente, lo cual desencadena apoptosis mediada por estrés del RE (39).

Otros tipos de cáncer

Recientemente, Moreno-Felici et al. establecieron una relación entre SERCA y la carcinogénesis a través del metabolismo de la glucosa. En condiciones de baja energía, la actividad de SERCA puede verse comprometida debido a la falta de ATP; sin embargo, algunos intermediarios glucolíticos, como la glucosa-6-fosfato (G6P) o fosfoenolpiruvato (PEP), pueden regular la actividad de SERCA, independientemente de la disponibilidad ATP. Se ha observado que las células T expuestas a limitadas concentraciones de glucosa no pueden activar la respuesta antitumoral adecuada, desencadenando una serie de eventos que son regulados principalmente por el PEP, el cual es un inhibidor de SERCA. Esto fue observado también en líneas celulares de cáncer de colon, donde el aumento del Ca^{2+} citosólico promovió la activación de las vías de la calcineurina y la calmodulina, provocando la translocación al núcleo del factor nuclear de las células T activadas (NFAT), así como la estabilización del factor de transcripción c-Myc. NFAT y c-Myc modulan positivamente la expresión de genes implicados en la inflamación y metástasis, así como la captación de glucosa, glucólisis, catabolismo de la glutamina y síntesis de serina-glicina, promoviendo un estado proliferativo en tumores, dejando un poco más clara la participación de SERCA en la tumorigénesis (40).

También se han detectado alteraciones en la expresión y/o función de SERCA en otros tipos de tumores, como en cáncer oral, de ovario, Sistema Nervioso Central (SNC) y algunos tipos de leucemias (41-45).

Por otro lado, la sobreexpresión de SERCA2a inhibe la proliferación y migración de células de músculo liso, que aunque no sean células tumorales, el mecanismo por el cual SERCA2a mitiga los mecanismos antes mencionados, es mediante la regulación de NFAT, el cual es también un importante mediador de algunas de las características distintivas de las células tumorales (46).

Implicaciones clínicas

Los patrones de expresión de SERCA, principalmente SERCA3, en modelos *in vitro* se han observado también en muestras de pacientes con cáncer. Papp y Brouland demostraron por estudios de inmunohistoquímica que en adenosis (lesiones benignas con un riesgo relativo mayor de desarrollar lesiones neoplásicas), los lóbulos de tejido epitelial mamario muestran una expresión considerablemente disminuida de SERCA3 con respecto al tejido normal (47), sugiriendo que la expresión de SERCA3 se encuentra asociada con las etapas

más tempranas de la tumorigénesis. Además, en lesiones invasivas (carcinomas ductales invasivos) clasificadas de acuerdo al grado Elston-Ellis, se observó que la expresión de SERCA3 correlaciona de manera inversa al grado histológico del tumor (47). Esto también se ha observado en muestras de pacientes con cáncer gástrico, de colon y pulmón (33, 48). Sin embargo, uno de los datos más interesantes es que los pacientes con cáncer de hígado, cuyos tumores presentan altos niveles de expresión del RNAm de SERCA3 tienen una mayor supervivencia (media de 70.5 meses), comparados con pacientes con el mismo tipo de cáncer pero con tumores que presentan baja expresión de la misma (media de 28.3 meses) (32). El mismo patrón se observó cuando se analizaron muestras de 287 pacientes con cáncer gástrico, de las cuales 144 mostraron alta expresión del gen *ATP2A3* y 143 mostraron bajos niveles del gen. Se encontró que aquellos pacientes con baja expresión de *ATP2A3* tuvieron una media de supervivencia de 16.6 meses, mientras que los pacientes con alta expresión mostraron una media de 26.7 meses (26). Los datos anteriores muestran la relevancia que SERCA3 podría tener en varios tipos de cáncer como marcador de pronóstico (26).

Se han llegado a desarrollar algunas estrategias terapéuticas basadas en la actividad de la bomba SERCA. La Tg inhibe selectivamente a la bomba, pero debido a que actúa en todos los tipos celulares es altamente citotóxica. Para evitar este problema, se desarrolló un pro-fármaco que consiste en un análogo de la Tg conjugado con un péptido que va dirigido contra un antígeno prostático de membrana específico (PSMA) que se encuentra sobre-expresado en cáncer de próstata y en otros tipos de cáncer como vejiga y mama. Este fármaco se conoce como mipsagargina y se activa hasta que es escindido por el PSMA en las células blanco (49), brindando nuevas opciones terapéuticas para estos tipos de cáncer. Cuando se probó la mipsagargina en un estudio clínico de fase I con pacientes con diversos tumores sólidos avanzados y metástasis, mostró ser bien tolerada a una dosis máxima de 66.8 mg/m² con efectos secundarios relativamente mínimos como náuseas, fatiga y pirexia, que desaparecían una vez que la droga dejaba de ser administrada (50). Cuando se administró, ya en un estudio de fase II, se concluyó que la mipsagargina puede ser una estrategia terapéutica efectiva para pacientes con carcinoma hepatocelular (51). Actualmente existen más ensayos clínicos en curso para evaluar su efectividad.

SERCA también ha mostrado ser importante debido a su interacción con diversos fármacos, incluso se ha propuesto que la señalización por

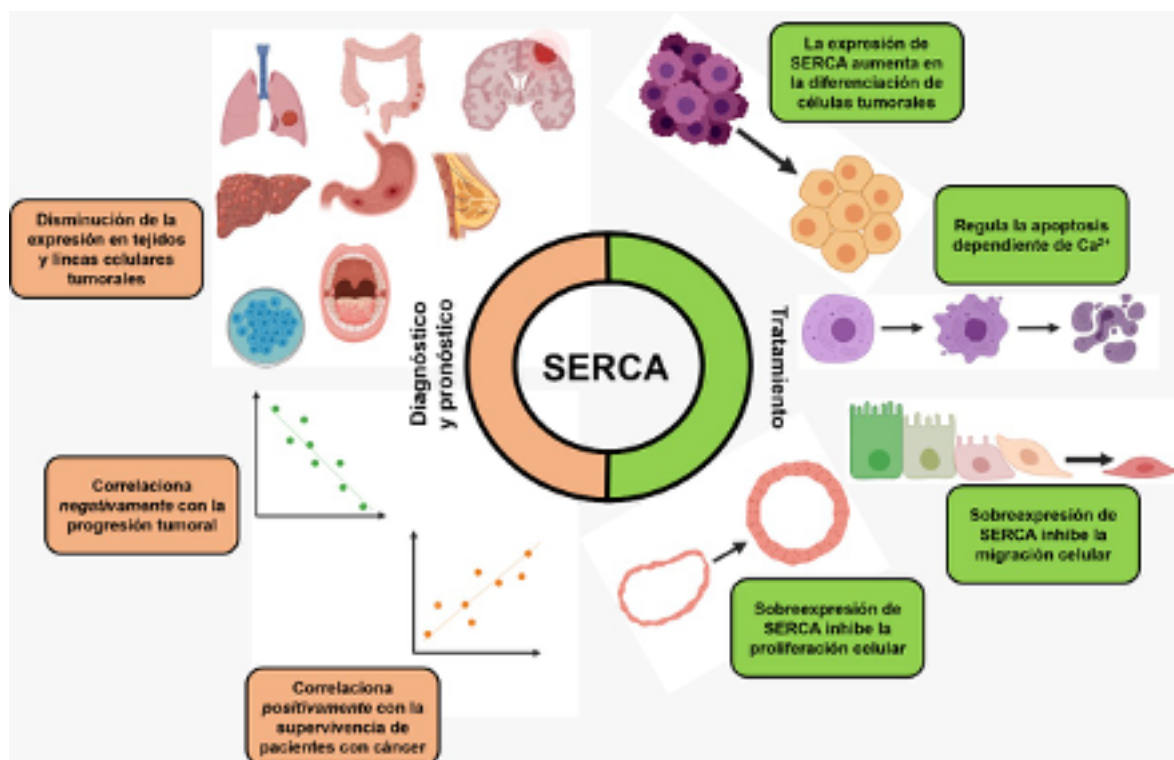


Figura 4. Implicaciones clínicas de las enzimas SERCA. Las implicaciones se dividen en dos partes: diagnóstico/pronóstico, donde la expresión de SERCA puede servir como indicador de tejido tumoral, así como de progresión tumoral y de supervivencia de pacientes; y tratamiento, se resumen las posibles implicaciones de una terapia basada en SERCA.

Ca^{2+} en general contribuye de manera importante a los efectos citotóxicos de la quimioterapia (52). Por ejemplo, se ha observado que el cisplatino, un fármaco que es ampliamente utilizado en muchos tipos de cáncer inhibe la actividad transportadora de SERCA, lo cual podría estar asociado con sus efectos secundarios como nefro y neurotoxicidad (53). Hay otro caso interesante con la doxorubicina (también conocida como adriamicina), un fármaco quimioterapéutico utilizado contra un amplio espectro de cánceres; sin embargo, tiene efectos adversos serios, siendo la cardiotoxicidad el más importante de ellos. Se ha observado que esta cardiotoxicidad es mediada por alteraciones en el intercambio de Ca^{2+} entre el RE y la mitocondria, y que el tratamiento con doxorubicina incrementa los niveles de p53, la cual previamente mencionamos que estimula la actividad de SERCA, incrementando la carga de Ca^{2+} en el RE y su posterior transferencia a la mitocondria, ocasionando apoptosis en cardiomiocitos (54).

También la curcumina, que es un fitoestrógeno que ha mostrado potentes actividades anticancerígenas, inhibe la actividad de SERCA2 a través de la estabilización de la conformación tridimensional de la proteína cuando está orientada hacia el cito-

sol, esto previene la unión del ATP y por lo tanto la progresión del ciclo catalítico (52).

La proteína p53 es conocida por su función como supresor de tumores y se estima que en cerca del 50% de todos los tipos de cáncer hay alguna alteración en ésta. Recientemente se demostró que p53 induce la apoptosis mediante la interacción con SERCA, generando un incremento en el transporte de Ca^{2+} en el RE. Más importante aún, se demostró que en ausencia de p53, la sobreexpresión de SERCA es suficiente para sensibilizar a las células a la apoptosis (13).

Conclusiones y perspectivas

Las investigaciones hasta el momento no permiten asegurar con certeza cuál es el papel que SERCA juega en la carcinogénesis. Sin embargo, todo apunta a que la reducción en la expresión de SERCA3 y/o la sobre-expresión de SERCA2, cada una en tipos de cáncer específicos, podrían ser importantes desde las etapas más tempranas del proceso neoplásico. Aún no está claro el porqué de cada situación; por un lado, se piensa que el incremento de SERCA2 protege a las células cancerosas de la apoptosis, impidiendo que se alcancen

concentraciones citosólicas de Ca^{2+} suficientes para su activación, mientras que la disminución en la expresión de SERCA3 podría ser una evidencia de que la señalización por Ca^{2+} se modifica en células cancerosas para prevenir la apoptosis.

SERCA y la señalización por Ca^{2+} en general participan en la homeostasis celular general y sus

alteraciones están involucradas en todas las características del cáncer (Fig. 1), por lo que estudiarlos es importante no sólo para entender los procesos patológicos, sino para desarrollar estrategias terapéuticas que sean más eficientes (Fig. 4) y amplíen las opciones de tratamiento que se puedan ofrecer a los pacientes.



REFERENCIAS

- Berridge MJ. Calcium signalling remodelling and disease. *Biochem Soc Trans.* 2012;40(2):297-309.
- Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000;1(1):11-21.
- Monteith GR, Prevarskaya N, Roberts-Thomson SJ. The calcium-cancer signalling nexus. *Nat Rev Cancer.* 2017;17(6):367-80.
- Roberts-Thomson SJ, Chalmers SB, Monteith GR. The Calcium-Signaling Toolkit in Cancer: Remodeling and Targeting. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2019;11(8).
- Brini M, Carafoli E. Calcium pumps in health and disease. *Physiol Rev.* 2009;89(4):1341-78.
- Chemaly ER, Troncone L, Lebeche D. SERCA control of cell death and survival. *Cell Calcium.* 2018;69:46-61.
- Periasamy M, Kalyanasundaram A. SERCA pump isoforms: their role in calcium transport and disease. *Muscle Nerve.* 2007;35(4):430-42.
- Zador E, Vangheluwe P, Wuytack F. The expression of the neonatal sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} pump (SERCA1b) hints to a role in muscle growth and development. *Cell Calcium.* 2007;41(4):379-88.
- Kimura T, Nakamori M, Lueck JD, Pouliquin P, Aoike F, Fujimura H, et al. Altered mRNA splicing of the skeletal muscle ryanodine receptor and sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in myotonic dystrophy type 1. *Hum Mol Genet.* 2005;14(15):2189-200.
- Stammers AN, Susser SE, Hamm NC, Hlynsky MW, Kimber DE, Kehler DS, et al. The regulation of sarco(endo)plasmic reticulum calcium-ATPases (SERCA). *Can J Physiol Pharmacol.* 2015;93(10):843-54.
- Vandecaetsbeek I, Vangheluwe P, Raeymaekers L, Wuytack F, Vanoevelen J. The Ca^{2+} pumps of the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(5).
- Dode L, Vilsen B, Van Baelen K, Wuytack F, Clausen JD, Andersen JP. Dissection of the functional differences between sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase (SERCA) 1 and 3 isoforms by steady-state and transient kinetic analyses. *J Biol Chem.* 2002;277(47):45579-91.
- Giorgi C, Bonora M, Sorrentino G, Missiroli S, Poletti F, Suski JM, et al. p53 at the endoplasmic reticulum regulates apoptosis in a Ca^{2+} -dependent manner. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(6):1779-84.
- Bittremieux M, Bultynck G. p53 and Ca^{2+} signaling from the endoplasmic reticulum: partners in anti-cancer therapies. *Oncoscience.* 2015;2(3):233-8.
- Chen G, Li S, Karakikes I, Ren L, Chow MZ, Chopra A, et al. Phospholamban as a crucial determinant of the inotropic response of human pluripotent stem cell-derived ventricular cardiomyocytes and engineered 3-dimensional tissue constructs. *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2015;8(1):193-202.
- Singh C, Chhabra G, Ahmad N. Resveratrol and Cancer Cell Biology: Actionable Targets and Mechanisms of Resveratrol. 2018. p. 183-207.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(1):7-34.
- Hakii H, Fujiki H, Suganuma M, Nakayasu M, Tahira T, Sugimura T, et al. Thapsigargin,

- a histamine secretagogue, is a non-12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) type tumor promoter in two-stage mouse skin carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1986;111(3):177-81.
21. Chao TS, Abe M, Hershenson MB, Gomes I, Rosner MR. Src tyrosine kinase mediates stimulation of Raf-1 and mitogen-activated protein kinase by the tumor promoter thapsigargin. *Cancer Res*. 1997;57(15):3168-73.
 22. Liu LH, Boivin GP, Prasad V, Periasamy M, Shull GE. Squamous cell tumors in mice heterozygous for a null allele of *Atp2a2*, encoding the sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase isoform 2 Ca^{2+} pump. *J Biol Chem*. 2001;276(29):26737-40.
 23. Gelebart P, Kovacs T, Brouland JP, van Gorp R, Grossmann J, Rivard N, et al. Expression of endomembrane calcium pumps in colon and gastric cancer cells. Induction of SERCA3 expression during differentiation. *J Biol Chem*. 2002;277(29):26310-20.
 24. Yang X, Lou J, Shan W, Hu Y, Du Q, Liao Q, et al. Pathogenic roles of altered calcium channels and transporters in colon tumorigenesis. *Life Sci*. 2019;239:116909.
 25. Flores-Peredo L, Rodriguez G, Zarain-Herzberg A. Induction of cell differentiation activates transcription of the Sarco/Endoplasmic Reticulum calcium-ATPase 3 gene (ATP2A3) in gastric and colon cancer cells. *Mol Carcinog*. 2017;56(2):735-50.
 26. Meneses-Morales I, Izquierdo-Torres E, Flores-Peredo L, Rodriguez G, Hernandez-Oliveras A, Zarain-Herzberg A. Epigenetic regulation of the human ATP2A3 gene promoter in gastric and colon cancer cell lines. *Mol Carcinog*. 2019;58(6):887-97.
 27. Suisse A, Treisman JE. Reduced SERCA Function Preferentially Affects Wnt Signaling by Retaining E-Cadherin in the Endoplasmic Reticulum. *Cell Rep*. 2019;26(2):322-9 e3.
 28. Fan L, Li A, Li W, Cai P, Yang B, Zhang M, et al. Novel role of Sarco/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2 in development of colorectal cancer and its regulation by F36, a curcumin analog. *Biomed Pharmacother*. 2014;68(8):1141-8.
 29. Izquierdo-Torres E, Rodriguez G, Meneses-Morales I, Zarain-Herzberg A. ATP2A3 gene as an important player for resveratrol anticancer activity in breast cancer cells. *Mol Carcinog*. 2017;56(7):1703-11.
 30. Contreras-Leal E, Hernandez-Oliveras A, Flores-Peredo L, Zarain-Herzberg A, Santiago-Garcia J. Histone deacetylase inhibitors promote the expression of ATP2A3 gene in breast cancer cell lines. *Mol Carcinog*. 2016;55(10):1477-85.
 31. Izquierdo-Torres E, Hernandez-Oliveras A, Meneses-Morales I, Rodriguez G, Fuentes-Garcia G, Zarain-Herzberg A. Resveratrol up-regulates ATP2A3 gene expression in breast cancer cell lines through epigenetic mechanisms. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019;113:37-47.
 32. Hernandez-Oliveras A, Izquierdo-Torres E, Meneses-Morales I, Rodriguez G, Zarain-Herzberg A, Santiago-Garcia J. Histone deacetylase inhibitors promote ATP2A3 gene expression in hepatocellular carcinoma cells: p300 as a transcriptional regulator. *Int J Biochem Cell Biol*. 2019;113:8-16.
 33. Arbabian A, Brouland JP, Apati A, Paszty K, Hegedus L, Enyedi A, et al. Modulation of endoplasmic reticulum calcium pump expression during lung cancer cell differentiation. *FEBS J*. 2013;280(21):5408-18.
 34. Bergner A, Kellner J, Tufman A, Huber RM. Endoplasmic reticulum Ca^{2+} -homeostasis is altered in Small and non-small Cell Lung Cancer cell lines. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009;28:25.
 35. Fan XX, Yao XJ, Xu SW, Wong VK, He JX, Ding J, et al. (Z)3,4,5,4'-trans-tetramethoxystilbene, a new analogue of resveratrol, inhibits gefitinb-resistant non-small cell lung cancer via selectively elevating intracellular calcium level. *Sci Rep*. 2015;5:16348.
 36. Vanoverberghe K, Vanden Abeele F, Mariot P, Lepage G, Roudbaraki M, Bonnal JL, et al. Ca^{2+} homeostasis and apoptotic resistance of neuroendocrine-differentiated prostate cancer cells. *Cell Death Differ*. 2004;11(3):321-30.
 37. Crepin A, Bidaux G, Vanden-Abeele F, Dewailly E, Goffin V, Prevarskaya N, et al. Prolactin stimulates prostate cell proliferation by increasing endoplasmic reticulum content due to SERCA 2b over-expression. *Biochem J*. 2007;401(1):49-55.
 38. Pacifico F, Ulianich L, De Micheli S, Treglia S, Leonardi A, Vito P, et al. The expression of the sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases in thyroid and its down-regulation following neoplastic transformation. *J Mol Endocrinol*. 2003;30(3):399-409.
 39. Zhang L, Cheng X, Xu S, Bao J, Yu H. Curcumin induces endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis in human papillary thyroid carcinoma BCPAP cells via disruption

- of intracellular calcium homeostasis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(24):e11095.
40. Moreno-Felici J, Hyrossova P, Arago M, Rodriguez-Arevalo S, Garcia-Roves PM, Escolano C, et al. Phosphoenolpyruvate from Glycolysis and PEPCK Regulate Cancer Cell Fate by Altering Cytosolic Ca²⁺. *Cells*. 2019;9(1).
 41. Ait Ghezali L, Arbabian A, Roudot H, Brouland JP, Baran-Marszak F, Salvaris E, et al. Induction of endoplasmic reticulum calcium pump expression during early leukemic B cell differentiation. *J Exp Clin Cancer Res*. 2017;36(1):87.
 42. Seo JA, Kim B, Dhanasekaran DN, Tsang BK, Song YS. Curcumin induces apoptosis by inhibiting sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase activity in ovarian cancer cells. *Cancer Lett*. 2016;371(1):30-7.
 43. Bleeker NP, Cornea RL, Thomas DD, Xing C. A novel SERCA inhibitor demonstrates synergy with classic SERCA inhibitors and targets multidrug-resistant AML. *Mol Pharm*. 2013;10(11):4358-66.
 44. Korosec B, Glavac D, Volavsek M, Ravnik-Glavac M. ATP2A3 gene is involved in cancer susceptibility. *Cancer Genet Cytogenet*. 2009;188(2):88-94.
 45. Endo Y, Uzawa K, Mochida Y, Shiiba M, Bukawa H, Yokoe H, et al. Sarcoendoplasmic reticulum Ca(2+) ATPase type 2 downregulated in human oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2004;110(2):225-31.
 46. Bobe R, Hadri L, Lopez JJ, Sassi Y, Atassi F, Karakikes I, et al. SERCA2a controls the mode of agonist-induced intracellular Ca²⁺ signal, transcription factor NFAT and proliferation in human vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;50(4):621-33.
 47. Papp B, Brouland JP. Altered Endoplasmic Reticulum Calcium Pump Expression during Breast Tumorigenesis. *Breast Cancer (Auckl)*. 2011;5:163-74.
 48. Brouland JP, Gelebart P, Kovacs T, Enouf J, Grossmann J, Papp B. The loss of sarco/endoplasmic reticulum calcium transport ATPase 3 expression is an early event during the multistep process of colon carcinogenesis. *Am J Pathol*. 2005;167(1):233-42.
 49. Andersen TB, Lopez CQ, Manczak T, Martinez K, Simonsen HT. Thapsigargin--from Thapsia L. to mipsagargin. *Molecules*. 2015;20(4):6113-27.
 50. Mahalingam D, Wilding G, Denmeade S, Sarantopoulos J, Cosgrove D, Cetnar J, et al. Mipsagargin, a novel thapsigargin-based PSMA-activated prodrug: results of a first-in-man phase I clinical trial in patients with refractory, advanced or metastatic solid tumours. *Br J Cancer*. 2016;114(9):986-94.
 51. Mahalingam D, Peguero J, Cen P, Arora SP, Sarantopoulos J, Rowe J, et al. A Phase II, Multicenter, Single-Arm Study of Mipsagargin (G-202) as a Second-Line Therapy Following Sorafenib for Adult Patients with Progressive Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Cancers (Basel)*. 2019;11(6).
 52. Tadini-Buoninsegni F, Smeazzetto S, Gualdani R, Moncelli MR. Drug Interactions With the Ca(2+)-ATPase From Sarco(Endo)Plasmic Reticulum (SERCA). *Front Mol Biosci*. 2018;5:36.
 53. Tadini-Buoninsegni F, Sordi G, Smeazzetto S, Natile G, Arnesano F. Effect of cisplatin on the transport activity of PII-type ATPases. *Metallomics*. 2017;9(7):960-8.
 54. Kerkshofs F, Bittremieux M, Morciano G, Giorgi C, Pinton P, Parys JB, Bultynck G. Emerging molecular mechanisms in chemotherapy: Ca²⁺ signaling at the mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. *Cell Death Dis*. 2018; 9(3): 334.