



Hot Science

Interrupidores moleculares: Orquestando la expresión génica mediante promotores

Uso potencial en tratamientos con genes terapéuticos

Molecular switches: Orchestrating gene expression through promoters

Potential use in therapeutic gene treatments

Mariela Montaña-Samaniego^{1,2*}

Cynthia Avendaño-Portugal¹

Miguel Ibáñez-Hernández¹

Resumen

La expresión génica, esencial para el funcionamiento celular y la producción de proteínas, es regulada por promotores que actúan como interruptores moleculares, controlando la transcripción de ADN a ARN mensajero mediante factores de transcripción y la ARN polimerasa II. Estos promotores, con elementos reguladores específicos, aseguran la transcripción precisa y son clave en estrategias de terapia génica, permitiendo dirigir genes terapéuticos a células o tejidos específicos, evitando efectos en células sanas. Los promotores tejido-específicos y tumor-específicos permiten establecer estrategias para tratar enfermedades genéticas y cáncer, respectivamente, mediante la activación selectiva en células blanco, optimizando la seguridad y eficacia del tratamiento.

Palabras clave: Terapia génica, promotores específicos, tratamientos dirigidos.

Summary

Gene expression, essential for cellular function and protein production, is regulated by promoters acting as molecular switches, controlling the transcription of DNA to messenger RNA through transcription factors and RNA polymerase II. These promoters, with specific regulatory elements, ensure precise transcription and are

¹Laboratorio de Terapia Génica, Departamento de Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, México.

²Laboratorio de Técnicas Fototérmicas, Departamento de Ciencias Básicas, Unidad Politécnica Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, CDMX, México.

*Autor para la correspondencia:
mariela.mont3091@gmail.com

key in gene therapy strategies, allowing for the targeting of therapeutic genes to specific cells or tissues, thus avoiding effects on healthy cells. Tissue-specific and tumor-specific promoters allow establishing strategies for treating genetic diseases and cancer, respectively, through selective activation in target cells, optimizing the safety and efficacy of the treatment.

Keywords: Gene therapy, specific promoters, targeted treatments.

Interrupidores de la expresión génica

La expresión génica es el proceso en el cual la información guardada en nuestros genes en forma de ácido desoxirribonucleico (ADN) se utiliza para transcribir el mensaje a ácido ribonucleico (ARN) y a partir de este ARN mensajero (ARNm), se producen las proteínas necesarias para el crecimiento,

reparación de tejidos y la realización de todas las funciones vitales que requieren los organismos eucariotas. Todo este proceso, conocido como el dogma central de la biología molecular, es fundamental para el correcto funcionamiento de nuestras células; sin embargo, la compleja maquinaria biológica que se encarga de este proceso no se activa de manera espontánea, sino que requiere de reguladores o interruptores que indiquen cuándo y dónde debe iniciarse la transcripción. Entre estos reguladores, se encuentran los promotores.

Los promotores son secuencias de ADN que se encuentran en la región previa al inicio de un *gen*. Los promotores actúan como interruptores moleculares que dan las señales de inicio a la maquinaria encargada de transcribir la información genética a ARNm. Pero ¿cómo lo hace? Existe un grupo de proteínas llamadas factores de transcripción, las cuales reconocen las secuencias características del promotor, promoviendo a su vez, el reclutamiento de la enzima ARN polimerasa II, responsable de la síntesis del ARNm.

Estas secuencias de ADN contienen elementos reguladores que determinan tanto la fuerza como la especificidad del promotor. La fuerza del promotor se refiere a su capacidad para iniciar y regular la transcripción del ADN en ARNm, mientras que la especificidad indica en qué tejidos podrá hacerlo. Por ejemplo, un promotor fuerte, es aquel con una alta tasa de transcripción, lo que resulta en una mayor cantidad de ARNm. La combinación de estos elementos reguladores, que son secuencias de ADN muy particulares, proporciona una firma genética única que define las características distintivas de cada promotor y, por ende, de cada gen, lo que determina cuándo, dónde y con qué intensidad se realizará la transcripción génica. De hecho, algunos promotores son reconocidos por factores de transcripción que solo se producen en ciertos tipos celulares, lo que los convierte en promotores tejido-específicos o tumor-específicos. Estos últimos están activos solo en células tumorales o cancerosas [1].

Terapia génica y los promotores tejido-específicos

El estudio de los promotores y su conocimiento molecular es fundamental para el diseño de tratamientos con genes terapéuticos, lo que hoy en día se conoce como terapias génicas. La terapia génica busca el tratamiento de enfermedades genéticas (hereditarias o adquiridas) introduciendo ácidos nucleicos (ADN o ARN) en las células del paciente. Este material genético tiene el propósito de corregir o compensar anomalías genéticas. Los ácidos nucleicos terapéuticos (ANT) pueden administrarse desnudos o pueden ser clonados en vectores de expresión, como los plásmidos. Para lograr la entrega de los ANT a las células, se requiere el uso de un sistema de transporte conocido como vehículo genético, el cual debe ser seguro y eficaz para superar las barreras celulares y garantizar la expresión del gen terapéutico en el interior de la célula [2]. Existen diversos tipos de vehículos genéticos; sin embargo, los más utilizados son los liposomas y los adenovirus, estos últimos tienen la desventaja de que inducen una fuerte respuesta inmune que, además de afectar la efectividad del vector, pueden provocar efectos adversos en el paciente. La eficacia de la terapia génica depende de una combinación del vehículo genético y del ANT. Esto implica la liberación del material genético en un tejido específico, su internalización en las células y la expresión del gen o del ANT en las células blanco [3].

Los promotores tejido-específicos son candidatos prometedores para regular la transcripción de genes terapéuticos específicamente en las células de interés, lo que los convierte en herramientas valiosas para la terapia génica (Figura 1). Estos promotores están activos en células de un tipo particular, donde se encuentran los factores de transcripción que los reconocen y activan. Para utilizarlos en terapia génica, se puede insertar la secuencia del promotor en un plásmido de expresión que también contenga el gen o el ANT. Luego, el plásmido se puede vincular con el vehículo de entrega y así hacerlo llegar a las células blanco.

Ejemplo de regulación, promotor PEPCK

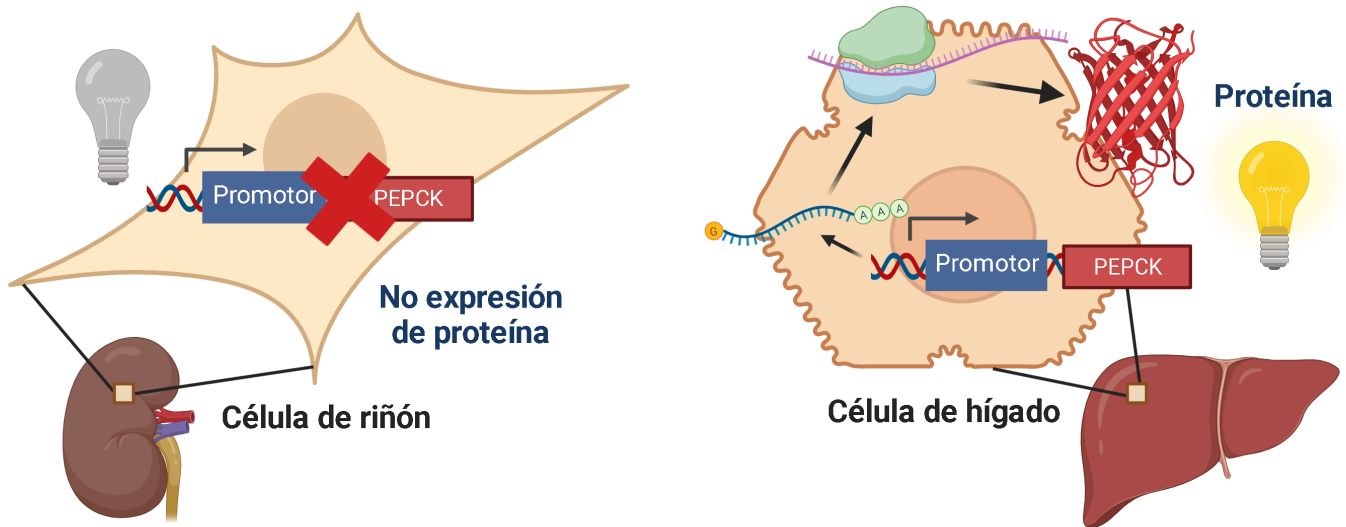


Figura 1. **Regulación de la expresión genética mediante un promotor tejido-específico.** Ejemplo de regulación por el promotor PEPCK que funciona como interruptor; en células del riñón se encuentra apagado, pero en células del hígado está prendido, por lo tanto, se produce el ARN mensajero y luego la proteína PEPCK. Creada con BioRender.com.

Un ejemplo de promotor tejido-específico es el de la enzima PEPCK (Fosfoenolpiruvato carboxicinas), la cual cataliza un importante paso inicial y específico en la *gluconeogénesis*, que se da principalmente en el hígado [4], por lo cual podría utilizarse para dirigir algún tratamiento únicamente a ese órgano (Figura 1).

La ventaja de esta estrategia de direccionalidad es que, aunque el gen terapéutico sea captado por células diferentes a las células de interés, no se expresará porque no contienen los factores de transcripción necesarios para activar al promotor tejido-específico [5], lo que daría lugar a un tratamiento dirigido y sin efectos adversos, a diferencia de cuando se usan estrategias no dirigidas.

Promotores tumor-específicos

Una de las principales limitaciones del uso de promotores tejido-específicos en algún tipo de cáncer, es que la expresión del gen puede generar efectos tóxicos tanto en las células normales como en las células cancerosas del tejido blanco. En otras palabras, en el caso de enfermedades como el cáncer, en donde solo una parte del tejido es canceroso, su utilización

podría ser desventajosa. Por lo que lo ideal es emplear un promotor que proporcione especificidad tumoral, es decir, que solo se active en células cancerosas.

Los promotores tumor-específicos son aquellos que se encuentran activos en células cancerosas y que tienen poca o ninguna actividad en células normales (Figura 2). Con frecuencia en los tumores cancerosos se expresan genes que normalmente sólo están activos en etapa fetal del desarrollo, pero que están apagados en el tejido adulto. Un promotor tumor-específico muy bien estudiado es el del gen de la α -fetoproteína (AFP), que se activa y se sobre expresa en un 80% de los hepatocarcinomas (HCC). Este promotor AFP se ha empleado para dirigir la expresión de genes terapéuticos en células de HCC [6] pero sigue siendo estudiado y modificado para aumentar su eficiencia.

A lo largo de los años, se han identificado diversos promotores tumor-específicos, y se han clasificado según el tipo de cáncer en el que estén activos. Por ejemplo, existen promotores altamente específicos, como el de la AFP, activo únicamente en el cáncer de hígado, y

Ejemplo de regulación, promotor tumor-específico AFP

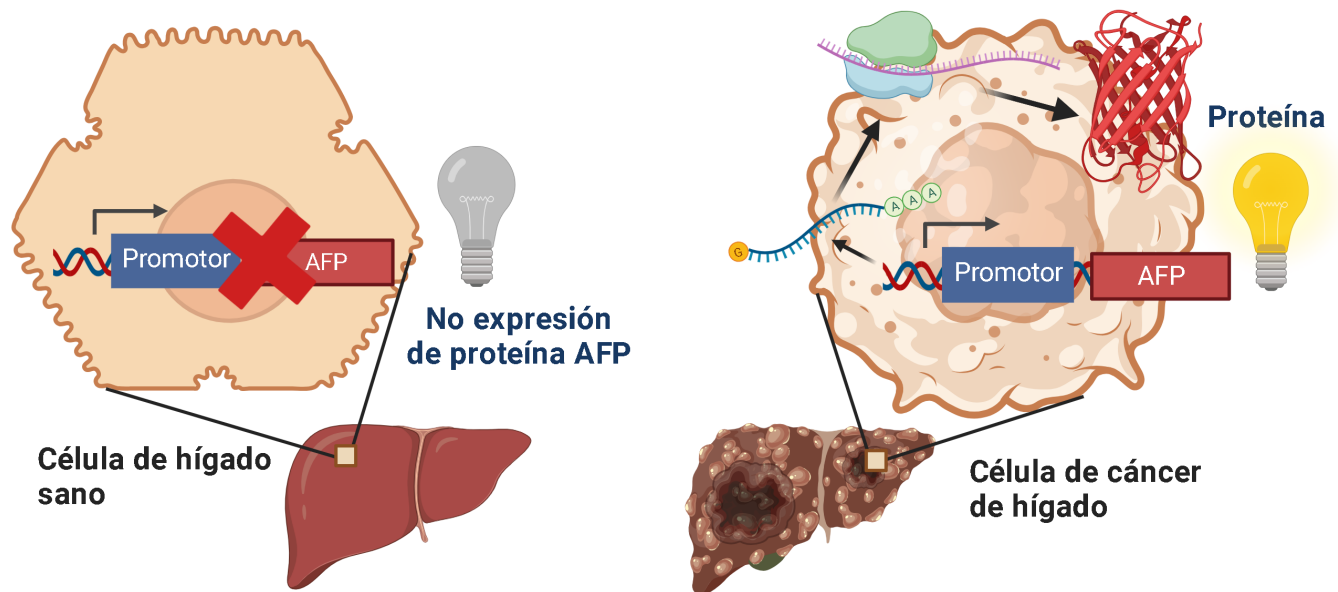


Figura 2. **Regulación de la expresión genética mediante un promotor tumor-específico.** Ejemplo de regulación por el promotor AFP que funciona como interruptor; en células del hígado sano se encuentra apagado, pero en células cancerosas del hígado está prendido, por lo tanto, se produce el ARN mensajero y luego la proteína AFP. Creada con BioRender.com.

otros que están presentes en múltiples tipos de cánceres, como hTERT (pulmón, hígado, gastrointestinal), Survivin (vejiga, gastrointestinal), HER-2 (próstata, mama, pancreático), CEA (colorectal, gastrointestinal, de mama), entre otros [7]. La elección del promotor para la terapia génica debe considerar no solo su especificidad de expresión, sino también su eficacia para dirigir la transcripción de genes terapéuticos al tipo celular deseado.

Para citar solo algunos ejemplos de la terapia génica que utiliza promotores tumor-específicos, se ha hecho un uso extensivo de genes "suicidas" como el HSV1-tk (Gen que da lugar a una enzima del virus del herpes simple tipo 1), que se ha usado para tratar distintos tipos de cánceres, pero empleando un promotor específico para cada uno de ellos. Esto es, se ha utilizado al promotor AFP para dirigir este gen suicida únicamente a células de HCC, el promotor MUC1 para células de cáncer de mama o el hTERT para dirigirlo a células de cáncer colorectal [1].

Algunos grupos de investigación se han

dedicado a modificar promotores tumor-específicos naturales para fortalecer su actividad y/o hacerlos más seguros. Se utilizan combinaciones de promotores tumor-específicos con secuencias regulatorias como cajas TATA, con el propósito de crear un promotor capaz de impulsar fuertemente la transcripción, pero dirigida. Esto asegura que la terapia solo se active si el vector genético entra en una célula que produzca algún factor específico que encienda el interruptor [8].

Aplicaciones potenciales de los promotores específicos

En los últimos años, los avances en la genómica y la tecnología del ADN han permitido identificar y caracterizar un gran número de promotores específicos en diversos organismos. Los estudios de secuenciación masiva y las técnicas de edición genética han revolucionado nuestra capacidad para explorar y también para manipular estas secuencias. Existen varias investigaciones donde estudian y usan este tipo de reguladores de la expresión génica para crear formas de dirigir los genes tera-

péuticos a un tipo particular de tejido, principalmente para el tratamiento de distintos tipos de cánceres, pues permite una mayor precisión y reduce los efectos secundarios que en otros tipos de tratamiento están presentes.

Existen diferentes estrategias para el tratamiento de enfermedades por terapia génica y el uso de promotores-tumor específicos. Por ejemplo, se pueden usar proteínas que ayudan a disminuir las características cancerosas de las células (supresoras de tumores). Además, pueden usarse ARNs reguladores de la expresión, que son productos de la transcripción que no se traducen en proteínas. Entre los diferentes tipos de ARNs reguladores, los más abundantes en los mamíferos son los *microARNs* (miRNAs).

El miRNA-33 (miR-33) participa en la regulación del metabolismo de lípidos e inhibe a unas proteínas (ABCA1 y ABCG1) encargadas de formar lipoproteínas de alta densidad (HDL), conocidas como “colesterol bueno”, es por esto que el miR-33 es un blanco importante para el tratamiento de la *hipercolesterolemia* y la *aterosclerosis*, por lo que en un grupo de investigación de la ENCB-IPN se diseñó, construyó y evaluó un vector de expresión que expresa una *esponja anti-miR-33*, regida por el promotor tejido-específico PEPCK, activo exclusivamente en el hígado. El uso de este vector aumenta los niveles de ARNm de los genes ABCA1 y ABCG1, lo que a su vez aumentaría los niveles de las HDL, con la finalidad de disminuir el riesgo de desarrollar aterosclerosis, pero sin que

Terapia génica de la aterosclerosis

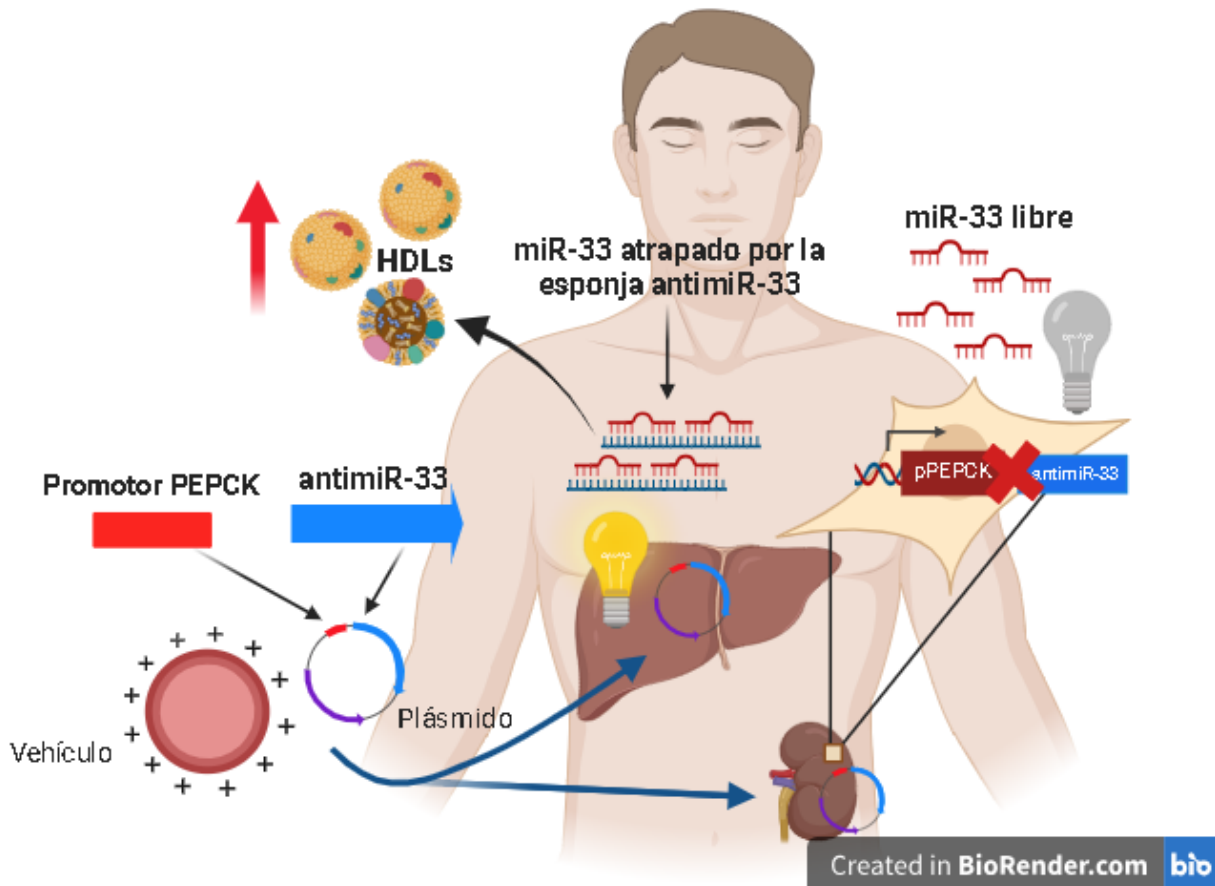


Figura 3. **Ejemplo de una terapia génica dirigida mediante un promotor tejido-específico.** Ejemplo de una estrategia de tratamiento mediante un ADN plasmídico con el gen terapéutico regulado por el promotor PEPCK (interruptor). El gen terapéutico (esponja anti-miR-33) se expresa únicamente en células del hígado porque ahí está prendido (activo) el promotor, por lo tanto, se produce el ARNm (la esponja anti-miR-33), que incrementará la producción de HDL, para el tratamiento de la hipercolesterolemia y aterosclerosis. En otros tipos de células dicho promotor se encuentra apagado, por lo tanto, no habrá producción del gen terapéutico y no causará ningún efecto en otros órganos. Creada con BioRender.com.

se presenten efectos adversos por dicha terapia (Figura 3) [5].

Esta información invaluable nos acerca cada vez más a descifrar las causas y a desarrollar estrategias cada vez más dirigidas que nos permitan tratar enfermedades de importancia mundial, pero sin el problema de los efectos adversos, pues el uso de promotores específicos proporciona un método más seguro y efectivo para administrar terapias génicas, minimizando el daño a los tejidos sanos o los que no son de interés para el tratamiento. A medida que la investigación avanza, el uso de estos interruptores moleculares en la terapia génica ofrece un horizonte prometedor para el desarrollo de tratamientos más precisos, eficientes, seguros y personalizados para una amplia gama de enfermedades. **iBIO**

Agradecimientos

Mariela Montaña-Samaniego agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca Posdoctoral otorgada.

Glosario

Aterosclerosis: Formación de placas de colesterol en las arterias.

Espanja: Secuencia de ARN que atrapa al miR-33 por complementariedad de bases.

Gen: Secuencia de ADN que dará lugar a una proteína específica.

Genes suicidas: Denominados así debido a que la expresión de estos genes induce la muerte celular.

Gluconeogénesis: Proceso metabólico que permite la síntesis de glucosa en periodos de ayuno prolongado o ejercicio intenso.

Hipercolesterolemia: Aumento de colesterol en sangre.

microARNs: Pequeñas secuencias ARN que inhiben la traducción del ARNm a proteína.

Referencias

- [1] Montaña-Samaniego, M., Bravo-Estupiñan, D.M., Méndez-Guerrero, O., Alarcón-Hernández, E. e Ibáñez-Hernández, M. (2020). Strategies for Targeting Gene Therapy in Cancer Cells With Tumor-Specific Promoters. *Front. Oncol.*, 10, 605380. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.605380>
- [2] Anguela, X. M. y High, K. A. (2019). Entering the Modern Era of Gene Therapy. *Annu. Rev. Med.*, 70, 273-88. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-012017-043332>
- [3] Patil, S., Gao, Y. G., Lin, X., Li, Y., Dang, K., Tian, Y., et al. (2019). The development of functional non-viral vectors for gene delivery. *Int J Mol Sci*, 20 (21), 1-23. <https://doi.org/10.3390/ijms20215491>
- [4] Igarashi, P. (2017). Regulación de la expresión génica. En Boron, W. F. y Boulpaep, E. L. (Eds.) *Fisiología médica* (3 ed., Vol. 1, pp. 73-101). Elsevier.
- [5] Montaña-Samaniego, M.; Sánchez-Cedillo, J.; Lucas-González, A.; Bravo-Estupiñan, D.M.; Alarcón-Hernández, E.; Rivera-Gutiérrez, S.; Balderas-López, J.A.; Ibáñez-Hernández, M. (2023). Targeted Expression to Liver of an anti-miR-33 Sponge as a Gene Therapy Strategy against Hypercholesterolemia: In Vitro Study. *Curr. Issues Mol. Biol.* 45(9), 7043-7057. <https://doi.org/10.3390/cimb45090445>
- [6] Kang, J.H., Toita, R. y Murata, M. (2016). Liver cell-targeted delivery of therapeutic molecules. *Crit Rev Biotechnol.* 36(1), 132-43. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.930017>
- [7] Chen, C., Yue, D., Le, L., Wang, H., Liu, J., Zhou, Y., Liu, S., Ding, T., Guo, M., y Xu, L. (2018). Promoter-Operating Targeted Expression of Gene therapy in Cancer: Current stage and prospect. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 11, 508-514. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2018.04.003>
- [8] Mogno, I., Vallania, F., Mitra, R. D., & Cohen, B. A. (2010). TATA is a modular component of synthetic promoters. *Genome research*, 20(10), 1391-1397. <https://doi.org/10.1101/gr.106732.110>

