



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina

**“ANÁLISIS DEL EFECTO DEL ÁCIDO VALPROICO SOBRE LA
EXPRESIÓN DEL mRNA DE LAS DESYODASAS EN CÉLULAS DE
CÁNCER DE COLON”**

Tesis

Que como parte de los requisitos
para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

Presenta:

Q. C. Marianna López Guiot

Dirigido por:

Dr. Pablo García Solís

Querétaro, Qro. A septiembre 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Medicina

Maestría en Ciencias en Biomedicina

**“ANÁLISIS DEL EFECTO DEL ÁCIDO VALPROICO SOBRE LA EXPRESIÓN DEL
mRNA DE LAS DESYODASAS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE COLON.”**

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en Biomedicina

Presenta:

Q. C. Marianna López Guiot

Dirigido por:

Dr. Pablo García Solís

Dr. Pablo García Solís
Presidente

Dra. Gloria Yareli Gutiérrez Silerio
Secretario

Dra. Adriana Jheny Rodríguez Méndez
Vocal

Dra. María Ludivina Robles Osorio
Suplente

Dr. Heber Luis Hernández Montiel
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Septiembre 2025
México

DEDICATORIA

A mis padres María Guiot Chimal y José Luis López Rodríguez que han sido mi soporte para seguir adelante y no han dejado de creer en mí en ningún momento. Por siempre darme su apoyo y amor incondicional; sin duda, todo lo que he logrado se lo debo a ellos.

A mis hermanos y compañeros de vida, Hania y José Luis, quienes me han compartido un poco de todo lo que saben e impulsado a ser mejor.

A mis tías, Vicky y Martha López Rodríguez que siempre han estado al pendiente de mí y mi formación y me han alentado en cada momento.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, el Dr. Pablo García Solís, quien me dio la oportunidad de estar en su grupo de investigación. Gracias por compartir su conocimiento y por todo el apoyo que me otorgó desde el inicio.

A la Dra. Gloria Yareli Gutiérrez Silerio, quien estuvo conmigo en todo momento, y me enseñó gran parte de lo que sé. Gracias por sus palabras de aliento, su paciencia y la motivación que me dio; sin duda, para mí, es uno de mis más grandes ejemplos a seguir.

A la Dra. A. Jheny Rodríguez Méndez, la Dra. M. Ludivina Robles Osorio y al Dr. Hebert Luis Hernández Montiel, por el tiempo que dedicaron y por sus aportaciones para enriquecer este proyecto.

A mis hermanos académicos Dainelys, José Luis y Jovana, porque han sido mis compañeros en este camino. Gracias por el apoyo que recibí desde un inicio, por sus palabras de motivación, y por la convivencia y hermandad que pudimos formar.

A Elisa, por ser de gran apoyo en el laboratorio y sacar lo mejor de mí. Gracias por los recuerdos y buenos momentos que creamos, y por haberme ofrecido una amistad leal y sincera en tan poco tiempo.

A la M. en C. Adriana González Gallardo por permitirme el uso de las instalaciones y equipos del laboratorio B-01, UNAM-Campus Juriquilla.

Al apoyo de beca No. CVU 1317677, recibido por parte de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI).

Al financiamiento del proyecto con folio FOPER-2025-FME03878 por parte de Fondos de Proyectos Especiales de Rectoría (FOPER) 2025.

ÍNDICE

ABREVIATURAS Y SIGLAS	1
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES	7
2.1 Cáncer colorrectal.....	7
2.1.1 Biología molecular del CRC	7
2.2 Epigenética	10
2.2.1 Metilación del DNA.....	10
2.2.2 RNA no codificante.....	11
2.2.3 Modificación de las histonas	12
2.2.3.1 Metilación de histonas	13
2.2.3.2 Acetilación y desacetilación de histonas.....	13
2.3 Inhibición de la desacetilación de histonas	16
2.3.1 Ácido valproico	18
2.3.1.2 Ácido valproico y cáncer	20
2.4 Hormonas tiroideas.....	22
2.4.1 Desyodasas de yodotironinas	25
2.5 Fisiología de las hormonas tiroideas y las desyodasas	27
2.6 Desyodasas de yodotironinas y cáncer	29
2.6.1 Desyodasas de yodotironinas y cáncer de colon	30
3. HIPÓTESIS	32
4. OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo general.....	32
4.2 Objetivos específicos	32
5. MATERIALES Y MÉTODOS	33
5.1 Cultivo celular	33
5.2 Ensayo de viabilidad celular (MTT).....	33
5.3 Extracción de RNA	34

5.4 Síntesis de cDNA.....	35
5.5 RT-qPCR	35
5.6 Electroforesis	36
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
6.1 El VPA promueve la disminución de la viabilidad de las células HT-29.....	38
6.2 Las células HT-29 expresan de manera basal los genes <i>DIO1</i> y <i>DIO3</i>	39
6.3 Aumento de la expresión de los genes <i>DIO1</i> y <i>DIO3</i> en las células HT-29 tratadas con VPA.....	44
7. CONCLUSIÓN	48
8. PERSPECTIVAS.....	48
REFERENCIAS.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las HAT	14
Tabla 2. Clasificación de las HDAC	16
Tabla 3. Clasificación de los HDACI	17
Tabla 4. Características de las DIOs	27
Tabla 5. Primers de los genes <i>DIO1</i> , <i>DIO2</i> , <i>DIO3</i> y <i>RPL32</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución del CRC.	9
Figura 2. Proceso de maduración de los ncRNA.....	12
Figura 3. Acetilación y desacetilación de histonas.	15
Figura 4. Farmacocinética del VPA.	19
Figura 5. Farmacodinamia del VPA.....	20
Figura 6. Hormonas tiroideas y desyodasas.....	22
Figura 7. Mecanismos genómicos y no genómicos de las HT.....	24
Figura 8. Regulación de T3 en la vía de señalización Hedgehog.....	29
Figura 9. El VPA disminuye la viabilidad de las células HT-29 a las 24, 48 y 72 h.	38
Figura 10. Las células HT-29 y SW-480 expresan de manera basal los genes de las desyodasas.	40
Figura 11. Representación del promotor de <i>DIO2</i> en diferentes tipos celulares...	42
Figura 12. Posible mecanismo del complejo LSD-1 – FoxO3 sobre las células HT- 29.	43
Figura 13. Cambios en la expresión de los genes <i>DIO1</i> y <i>DIO3</i> en las células HT- 29 tratadas con VPA.	45

ABREVIATURAS Y SIGLAS

CRC	Cáncer colorrectal
HT	Hormona (s) tiroidea (s)
CIN	Inestabilidad cromosómica
CIMP	Fenotipo metilador de islas CpG
MSI	Inestabilidad microsatelital
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
DNMT	DNA metiltransferasas
5mC	5-metilcitosina
TET	Proteínas de translocación diez-once
5hmC	5-hidroximetilcitosina
5fC	5-formilcitosina
5caC	5-carboxilcitosina
TDG	Timina DNA glicosilada
mRNA	RNA mensajero
ncRNA	RNA no codificante
miRNA	MicroRNA
lncRNA	RNA largo no codificante
PTM	Modificaciones postraduccionales
HTM	Metiltransferasas de histonas
HDM	Desmetilasas de histonas
HAT	Acetiltransferasas de histonas
HDAC	Desacetilasas de histonas

SIRT	Sirtuinas
HDACI	Inhibidor de las desacetilasas de histonas
VPA	Ácido valproico
CYP	Citocromo P450
UGT	Uridina difosfato-glucuronisil transferasa
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
SNC	Sistema nervioso central
T3	Triyodotironina
T4	Tetrayodotironina
rT3	Triyodotironina reversa
T2	Diyodotironina
MCT8	Transportador de monocarboxilato 8
MCT10	Transportador de monocarboxilato 10
TR	Receptor nuclear de hormona tiroidea
RXR	Receptor X retinoide
TREs	Elementos de respuesta a hormonas tiroideas
CoA	Coactivadores
CoR	Correpresores
MAPK	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
SHH	Sonic Hedgehog
TCF	Factor de células T
LEF	Factor potenciador linfoide
TRβ	Receptor nuclear de hormona tiroidea beta
DIO (s)	Desyodasa (s) de yodotironina

DIO1	DIO tipo 1
DIO2	DIO tipo 2
DIO3	DIO tipo 3
Sec	Selenocisteína
Cys	Cisteína
SECIS	Secuencias de inserción de selenocisteína
TGF-β	Factor de crecimiento transformante beta
FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
Hh	Señalización Hedgehog
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico
DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
ATCC	American Type Culture Collection
SFB	Suero fetal bovino
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético
PBS	Buffer fosfato salino
Ensayo MTT	Ensayo de viabilidad celular
IC50	Concentración inhibitoria 50
DMSO	Dimetilsulfóxido
cDNA	DNA copia
RT-qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa
RNasas	Ribonucleasas
dNTPs	Trifosfatos de desoxinucleótidos
TAE	Tris, acetato y EDTA
TTF-1	Factor de transcripción tiroideo 1

LSD-1	Desmetilasa 1 específica de lisina
CRE	Elemento de respuesta a cAMP
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta a cAMP
TSS	Sitio de inicio de la transcripción
GATA-RE	Elemento de respuesta a GATA
ml	Mililitro
μl	Microlitro
rpm	Revoluciones por minuto
mM	Milimolar
h	Hora
min	Minuto
seg	Segundo
ns	No significativo
pb	Pares de bases

RESUMEN

Las desyodasas de yodotironinas participan en la activación e inactivación de las hormonas tiroideas, que además de participar en procesos fisiológicos, también están implicadas en el correcto funcionamiento de las células. Sin embargo, en procesos cancerígenos, como es el cáncer de colon (CRC), se han visto afectadas tanto la expresión de las desyodasas como las funciones celulares, lo cual puede tener como origen la alteración en la acetilación de histonas debido a que se impide la expresión de genes primordiales para las células por un aumento en la eliminación de los grupos acetilo (desacetilación de histonas). A pesar de esto, se ha presentado como alternativa el ácido valproico (VPA), que generalmente es utilizado como tratamiento de la epilepsia, ya que inhibe a las desacetilasas de histonas. Debido a lo anterior, en el presente estudio, se pudo determinar el papel del VPA sobre la expresión de los genes de las desyodasas en un modelo *in vitro*. Para esto, se utilizó la línea celular de CRC humano HT-29 que fue tratada con dicho compuesto y mediante RT-qPCR, se determinó la expresión de los productos de interés. Como resultados, se observó la disminución de la viabilidad de las células HT-29 de manera dosis-dependiente. Además, los transcritos de las desyodasas tipo 1 y 3 presentan un aumento considerable con concentraciones bajas de VPA (0.5 – 5 mM) a las 24, 48 y 72 h. En conclusión, el VPA promueve la expresión de dos de los tres genes de las desyodasas pudiendo atribuirse a la capacidad que tiene este compuesto de actuar a nivel molecular inhibiendo la acción de las desacetilasas de histonas. Otros estudios son importantes para esclarecer la variabilidad de la expresión de los genes a diferentes dosis de VPA, así como para complementar la información presentada.

Palabras clave: cáncer colorrectal, desyodasas, ácido valproico, acetilación de histonas.

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con los registros de GLOBOCAN 2022, el cáncer colorrectal (CRC) ocupa el segundo lugar tanto en prevalencia como en mortalidad con un 10.5% y un 9.3% del total de neoplasias malignas, respectivamente. Sin embargo, en México ocupa el primer lugar en mortalidad y cada año el número de nuevos casos aumenta hasta un 10%, siendo los adultos mayores de entre 65 y 75 años la población con mayor riesgo (INEGI, 2024).

El CRC es una entidad cuyo proceso carcinogénico consta de varias modificaciones genéticas y epigenéticas; la diferencia entre estas dos radica en que en las primeras se ve afectada la secuencia del material genético de los organismos mientras que en las segundas se presentan modificaciones estructurales del genoma más no en su secuencia (Guo *et al.*, 2019). Estas últimas pueden regular a la baja o a la alta enzimas que están presentes en el funcionamiento normal de las células, como es el caso de las desyodasas de yodotironina; estas proteínas participan en la regulación del funcionamiento de las hormonas tiroideas (HT), activándolas o desactivándolas para que puedan ejercer su actividad biológica en diferentes procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la muerte celular (Sabatino *et al.*, 2021).

Con el objetivo de poder regular estos mecanismos epigenéticos que se encuentran alterados en el cáncer y que además son reversibles, ha surgido el interés de hacer uso de compuestos como el ácido valproico (VPA). El VPA es un medicamento ampliamente utilizado en el tratamiento de la epilepsia y presenta un efecto de inhibidor de las desacetilasas de histonas evitando la remoción los grupos acetilo de las histonas promoviendo la transcripción génica (Singh *et al.*, 2021).

Por tal motivo, en la presente investigación se muestran los hallazgos en la expresión de los genes de las desyodasas pertenecientes a células de CRC que fueron tratadas con diferentes concentraciones de VPA.

2. ANTECEDENTES

2.1 Cáncer colorrectal

De acuerdo con la Organización Mundial de Salud (OMS, 2019), el cáncer se considera un grupo de enfermedades que afecta a una gran cantidad de personas en el mundo. Este se caracteriza, principalmente, por la proliferación excesiva y acumulación de células en determinados tejidos, obteniendo, de esta manera, un aumento en el tamaño del órgano afectado; así como un riesgo para la diseminación de estas células anormales a otros tejidos (proceso conocido como metástasis).

De manera interesante, los tres tipos de cáncer con mayor número de nuevos casos en población masculina fueron el cáncer de pulmón, de próstata y el CRC; mientras que, en la población femenina, se encontró en primer lugar el cáncer de mama, seguido por el CRC y, en tercer lugar, el cáncer de pulmón (*Global Cancer Observatory*, 2022).

2.1.1 Biología molecular del CRC

Teniendo en cuenta lo anterior, el CRC es un tipo de neoplasia que afecta tanto a hombres como a mujeres en donde se presentan una serie de mutaciones o cambios en la expresión de genes. Este puede aparecer de manera hereditaria, o bien, de forma esporádica. La forma hereditaria representa alrededor del 15 al 20% del total de los CRC y está asociada a condiciones como la enfermedad de Lynch y el síndrome de poliposis adenomatosa familiar. Por otro lado, el CRC esporádico es el más común y representa cerca de un 75 a 80% del total de los CRC (Martín-García *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2023); este puede desarrollarse por alguna de las tres vías que se describen a continuación:

- Inestabilidad cromosómica (CIN).

Es la vía más común dentro del CRC esporádico, en donde genes como *BRAF*, *KRAS*, *APC*, *SMAD4*, así como *TP53* se encuentran con mutaciones causadas por pérdidas o ganancias de segmentos de los cromosomas afectando el número de copias de estos genes (Martín-García *et al.*, 2024).

- Fenotipo metilador de islas CpG (CIMP)

En esta vía se presenta una hipermetilación de las regiones promotoras de una gran variedad de genes que tienen un alto contenido de islas de citosina y guanina (CpG), provocando el silenciamiento de estos. Esta vía también recibe el nombre de la vía serrada (Areses Manrique *et al.*, 2016).

- Inestabilidad microsatelital (MSI)

Dentro de esta última vía se presentan mutaciones en algún gen encargado de reparar errores de emparejamiento del DNA durante la replicación, como lo son *MSH2*, *MLH1*, *MSH6* y *PMS2*; de manera que, no se va a poder llevar a cabo el arreglo del DNA, provocando así una serie de mutaciones en microsatélites (secuencias repetidas cortas de aproximadamente 1 a 6 pares de bases distribuidas a lo largo del genoma) (Martín-García *et al.*, 2024).

La tumorigénesis del CRC esporádico se da a lo largo de varios años y las alteraciones que se presentan llevan a la formación de un carcinoma (**Figura 1**). El primer suceso de este proceso es la pérdida del gen *APC*, provocando a su vez, alteraciones en la vía de señalización WNT, la cual regula algunas funciones celulares como la proliferación, diferenciación y renovación de las células. Posteriormente se presenta la activación del gen *KRAS*, deleciones del cromosoma 18, en donde se pierde el gen *DCC*, así como la pérdida del gen *TP53*, dando como resultado un tumor maligno que puede invadir otros órganos (Yang *et al.*, 2023).

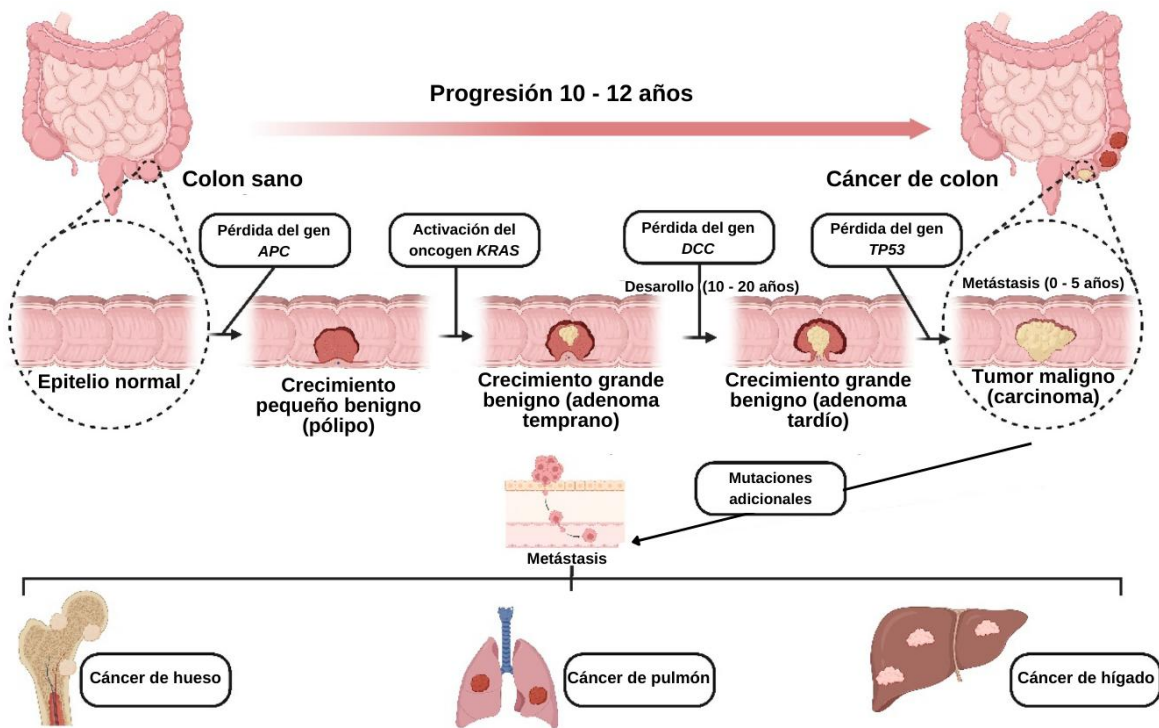


Figura 1. Evolución del CRC.

En el proceso neoplásico, las células epiteliales del colon sufren de mutaciones llevando a la activación de oncogenes y la pérdida de genes supresores de tumores viéndose reflejado en el crecimiento y evolución de pólipos que se convertirán en carcinomas. Modificado de Omran *et al.*, *Technnology in Cancer Research & Treatment* (2024).

Para que una persona desarrolle CRC, se han considerado diferentes factores de riesgo que son genéticos como el padecimiento de enfermedades hereditarias, donde se encuentran el síndrome de poliposis adenomatosa familiar y la enfermedad de Lynch; la edad así como el sexo también son puntos a considerar ya que, los hombres de edades mayores a 50 años, muestran una mayor incidencia comparados con personas de edades más tempranas y/o mujeres; sin embargo, se ha observado que la edad de aparición de este tipo de cáncer va disminuyendo con el paso de los años, afectando a personas de alrededor de los 30 años. Por otro lado, se tienen factores de riesgo epigenéticos como el estilo de vida; una alimentación de elevado consumo de carnes rojas y alimentos super procesados, y baja en frutas, verduras y fibra, una actividad física nula, así como un consumo regular de alcohol y tabaco, influirán en el desarrollo del CRC (Alzahrani *et al.*, 2021).

2.2 Epigenética

La forma en cómo se expresan o inhiben ciertos genes no solo se da por mutaciones sino también por mecanismos epigenéticos. La epigenética se refiere a los cambios en la expresión de genes que son heredables sin llegar a influir en la secuencia del DNA, los cuales están relacionados con factores ambientales como alimentación, actividad física, exposición a contaminación del ambiente, entre otros (Tollefsbol, 2017). Esta se ve reflejada en 3 mecanismos diferentes:

1. Metilación del DNA
2. RNA no codificante
3. Modificación de las histonas

2.2.1 Metilación del DNA

Este proceso consiste en la incorporación de un grupo metilo a la cadena de DNA por medio de las DNA metiltransferasas (DNMT) provocando una activación o represión de la transcripción génica. La adición del grupo metilo ocurre en la posición 5 de la citosina (5-metilcitosina, 5mC) y se lleva a cabo, principalmente, en aquellas zonas que tienen en mayor proporción la secuencia de bases citosina, guanina (comúnmente denominadas islas CpG), las cuales se encuentran a lo largo de todo el genoma, especialmente en los promotores de los genes, o bien, en sitios de inicio de la transcripción (Xie *et al.*, 2023).

Existen diferentes proteínas DNMT, pero las más importantes son las DNMT1, DNMT3A y DNMT3B; la primera se encarga de mantener la metilación en el proceso de la replicación del DNA; mientras que las otras dos participan, principalmente, en la adición de grupos metilo durante el desarrollo embrionario (metilación de novo). Por otro lado, es posible tener el proceso contrario: la desmetilación del DNA. Este es un mecanismo en donde se ven involucradas las proteínas de translocación diez-once (TET, por sus siglas en inglés), que actúan sobre la 5mC oxidándola y generando la 5-hidroximetilcitosina (5hmC), la cual, puede evitar que las DNMT se unan al DNA para mantener y/o agregar grupos metilo, o bien, puede seguir siendo oxidada por las proteínas TET obteniendo así a la 5-formilcitosina (5fC) y a la 5-

carboxilcitosina (5caC) que serán reconocidas y eliminadas por la timina DNA glicosilasa (TDG), y, mediante la maquinaria de reparación del DNA, se generará una citosina no modificada (Guo *et al.*, 2019; Xie *et al.*, 2023).

2.2.2 RNA no codificante

De acuerdo al comúnmente denominado “dogma central de la biología molecular”, se tiene la transcripción (donde se obtiene un mRNA a partir del DNA), y posteriormente la traducción (donde se sintetiza una proteína a partir del mRNA), sin embargo, esta codificación a proteínas sólo sucede en aproximadamente el 1 – 2% del genoma transcrito, mientras que del resto (98%) se obtienen los RNA no codificantes (ncRNA,) los cuales se unen al mRNA, específicamente en la región no traducida 3’ (3’-UTR), pudiendo degradarlo o bien, inhibirlo para que no se realice el proceso de traducción para la obtención de una proteína (Chhabra, 2017; Okugawa *et al.*, 2015).

Dentro de estos ncRNA se pueden encontrar dos tipos de acuerdo con la longitud que tienen: microRNA (miRNA) con 18-25 nucleótidos de longitud y RNA largo no codificante (lncRNA) que contiene más de 200 nucleótidos de longitud. Los primeros están asociados a la regulación a nivel post traduccional, mientras que los lncRNA, se han visto que están implicados en la regulación a nivel transcripcional (de forma positiva o negativa) mediante el reclutamiento de complejos proteicos (Jung *et al.*, 2020; Kaikkonen *et al.*, 2011).

Estos surgen de diferentes maneras, por un lado, los miRNAs llevan un proceso de maduración (**Figura 2**): en primer lugar, se obtiene un transcrito con miles de nucleótidos de longitud (pri-miRNA), que es escindido para formar un producto de menos nucleótidos (pre-miRNA) y será transportado fuera del núcleo donde, nuevamente, será cortado formando, de esta manera, el miRNA. Por otro lado, los lncRNA son sintetizados de manera similar a la transcripción de un mRNA que codifica a una proteína y, a diferencia de los miRNA, estos no pasan por un proceso de escisión (Chhabra, 2017).

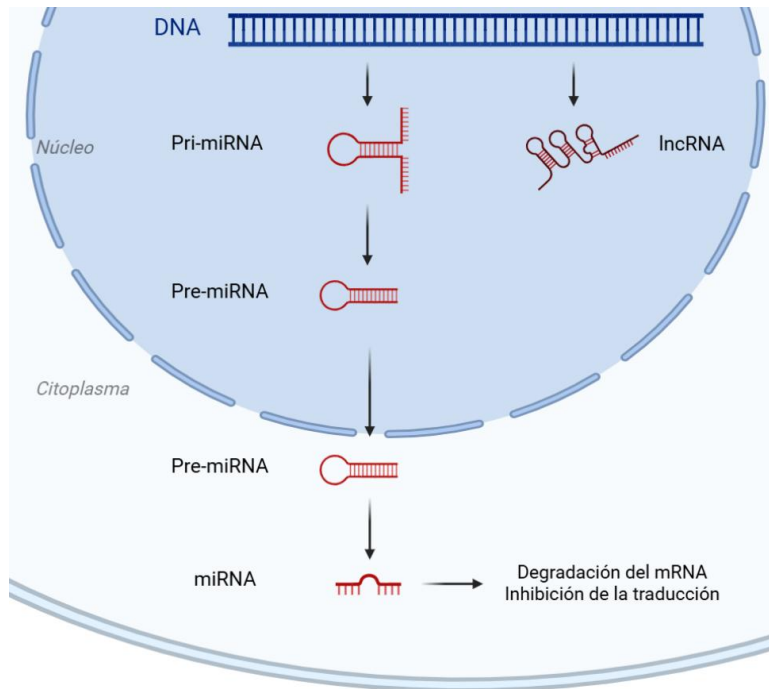


Figura 2. Proceso de maduración de los ncRNA.

Para la generación de los miRNA es necesario que se lleven a cabo varias escisiones a partir del primer producto que tiene una longitud de miles de nucleótidos, mientras que para un lncRNA no se requiere algún proceso suplementario (Chhabra, 2017).

2.2.3 Modificación de las histonas

Las histonas son 5 proteínas básicas, de bajo peso molecular (11 – 16 kDa), la H2A, la H2B, la H3, la H4 y la H1; las primeras dos presentan en mayor proporción el aminoácido lisina, mientras que la H3 y la H4, son más ricas en arginina; son parte fundamental de la cromatina ya que intervienen en la organización del DNA, esto debido a la formación de los nucleosomas, los cuales están compuestos por la unión de dos subunidades de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4, formando un octámero en el que el DNA le da, aproximadamente, dos vueltas. La H1, por su parte, se encuentra unida a esta estructura nuclear ayudando a que se den las interacciones entre los nucleosomas (Lee & Grant, 2019; Tecalco-Cruz *et al.*, 2021).

Cada una de las histonas que conforman el octámero, cuentan con una cola de aminoácidos básicos que sobresale del nucleosoma, la cual es susceptible a sufrir de modificaciones postraduccionales (PTM) donde se agregan o eliminan grupos

químicos provocando que se tenga una mayor o menor fuerza de la interacción histona-DNA para regular la transcripción génica. Lo anterior es debido a que, como el DNA cuenta con una carga negativa conferida por sus grupos fosfato, y las histonas tienen una carga positiva por los aminoácidos que las conforman se tendrá una unión fuerte, sin embargo, al agregar estos grupos químicos a la cola de las histonas, se neutralizará la carga positiva de las histonas y se tendrá una fuerza de unión menor entre el DNA y el octámero de proteínas permitiendo o impidiendo, de esta manera, la entrada de la maquinaria transcripcional (Lee & Grant, 2019). La característica de estas PTM es que son reversibles y se pueden encontrar diferentes tipos, sin embargo, las más conocidas y mejor estudiadas son la acetilación y la metilación, pero pueden encontrarse otras como la fosforilación, ubiquitinación, sumoilación, acilación, etc.; y todas forman parte de la regulación genética de las células eucariotas (Lee *et al.*, 2023).

2.2.3.1 Metilación de histonas

Este es un mecanismo similar a la metilación del DNA, mencionado anteriormente, en donde se agregan grupos metilo, pero en lugar de que suceda en la cadena de DNA, estos son incorporados en la cola de las histonas, en los aminoácidos lisina y arginina de las H3 y las H4 con la ayuda de las enzimas metiltransferasas de histonas (HTM) y son removidos por las desmetilasas de histonas (HDM). El efecto que tiene esta PTM sobre la transcripción de genes varía dependiendo de los aminoácidos que son metilados así como la cantidad de grupos metilo que se puedan agregar, ya que pueden encontrarse lisinas y/o argininas con uno, dos o hasta tres grupos metilo (mono, di y tri metilación); y, es a partir de lo anterior, que se promueva o reprima la transcripción génica (Jung *et al.*, 2020; Vanzan *et al.*, 2017).

2.2.3.2 Acetilación y desacetilación de histonas

La acetilación de histonas es una PTM donde participan las enzimas acetiltransferasas de histonas (HATs). Debido a que hay varias HAT, se pueden agrupar de acuerdo con las diferencias en las secuencias de su sitio activo, resultando así, en GNAT (*v.gr.* Hat1, PCAF, Elp3), MYST (*v.gr.* MOF, Sas2, Sas3,

TIP60), p300/CBP y Rtt109 (**Tabla 1**), siendo esta última, específica de hongos. Las HATs se encuentran en el núcleo y el citoplasma y actúan agregando grupos acetilo, provenientes de la acetil CoA, a los residuos de lisina de las colas de las histonas disminuyendo las cargas positivas de este aminoácido perdiendo la cohesión de la hebra de DNA con las histonas, lo que conlleva al desdoblamiento de la cromatina; de esta manera, la maquinaria de transcripción puede acceder fácilmente a los genes promotores y puede llevar a cabo la transcripción génica (**Figura 3**) (Lee & Grant, 2019; Xia *et al.*, 2020).

Tabla 1. Clasificación de las HAT

Familia	Proteína	Localización
GNAT	Hat1 PCAF Elp3	Núcleo y citoplasma
MYST	MOF Sas2 Sas3 TIP60	Núcleo
P300/CBP	P300 CBP	Núcleo y citoplasma
Rtt109	yRtt109	-

(Lee & Grant, 2019)

De manera contraria, la desacetilación de histonas es un proceso en el que la cromatina se encuentra condensada y está mediado por la acción de las enzimas desacetilasas de histonas (HDACs); estas son enzimas que se clasifican por clases, teniendo así cuatro tipos: la clase I (HDAC 1-3 y 8), la clase II (HDAC 4-7, 9 y 10), la clase III, o comúnmente conocidas como sirtuinas (SIRT1-7) y la clase IV (HDAC11), estas, a su vez pueden ser clasificadas por el tipo de cofactor al que son afines: las dependientes de Zn (clase I, II, y IV) y las dependientes de NAD⁺ (SIRT) y pueden ser encontradas tanto en núcleo como en citoplasma (**Tabla 2**). El papel que desempeñan estas enzimas sobre las histonas es la eliminación del grupo acetilo de las lisinas (que ya habían sido previamente añadidos por las HAT) lo que hace que haya nuevamente una interacción entre las cargas positivas de las

histonas y las cargas negativas del DNA dando como resultado el impedimento de la transcripción (**Figura 3**) (Hull *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2020).

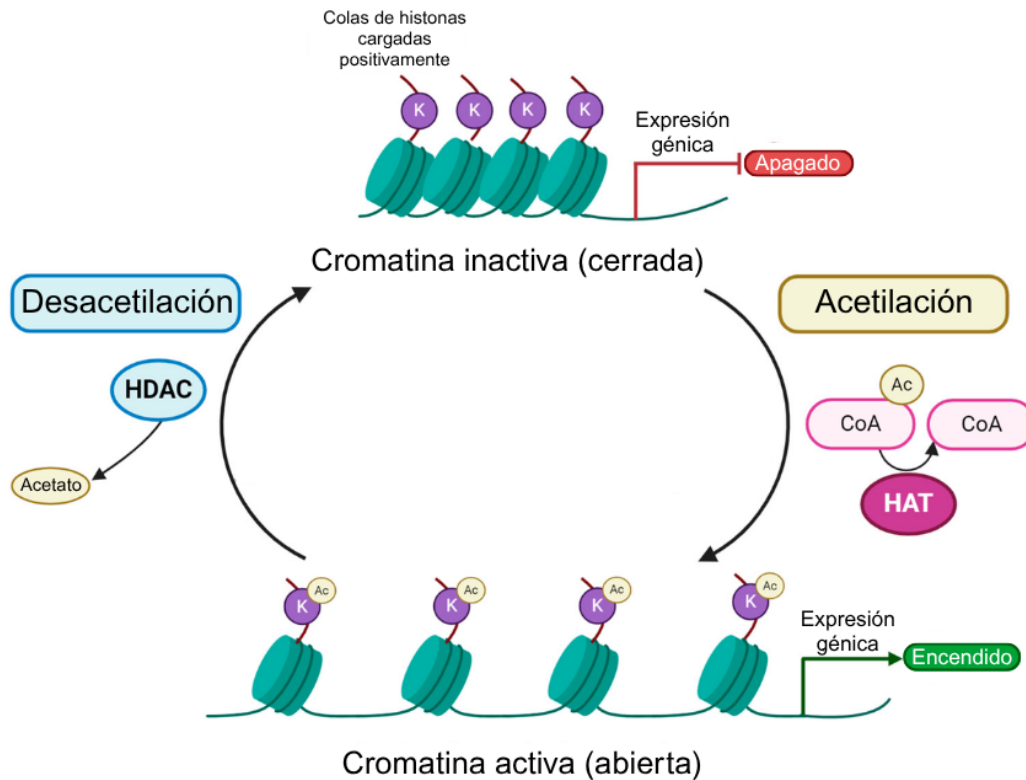


Figura 3. Acetilación y desacetilación de histonas.

La acetilación de histonas está mediada por las enzimas HAT que agregan grupos acetilo a las lisinas de las colas de las histonas para que se pueda llevar a cabo la expresión de genes. Caso contrario, las enzimas HDAC eliminan los grupos acetilo, lo que promueve que se tenga una cromatina compacta y, por lo tanto, no se pueda llevar a cabo la transcripción génica. Modificada de Miziak *et al.*, *International Journal of Molecular Sciences* (2024).

Tabla 2. Clasificación de las HDAC

Familia	Clase	Subclase	Proteína	Cofactor	Localización
Desacetilasas de histonas	I	-	HDAC1 HDAC2 HDAC3 HDAC8	Zinc	Núcleo
	II	Ila	HDAC4 HDAC5 HDAC7 HDAC9	Zinc	Núcleo y citoplasma
		IIb	HDAC6 HDAC10		
Sirtuinas	III	I	SIRT1 SIRT2 SIRT3	NAD ⁺	Citoplasma
		II	SIRT4		
		III	SIRT5		
		IV	SIRT6 SIRT7		
Desacetilasas de histonas	IV	-	HDAC11	Zinc	Núcleo y citoplasma

(Xia *et al.*, 2020)

2.3 Inhibición de la desacetilación de histonas

Como se mencionó anteriormente, las HDAC ejercen un papel importante para el equilibrio de la regulación génica, sin embargo, se puede presentar un desequilibrio de la actividad de estas enzimas y de las HAT en diferentes enfermedades como es el cáncer, donde la desacetilación de histonas va a predominar por sobre la acetilación confiriéndoles a las células ciertas características atípicas que van a verse reflejadas en su crecimiento, proliferación, así como en la diseminación a otros órganos. Sin embargo, las HDAC pueden ser inhibidas por medio de los inhibidores de las HDAC (HDACI), los cuales son compuestos que impiden que dichas enzimas lleven a cabo su función y de esta manera se puedan transcribir genes necesarios para la regulación celular; su mecanismo de acción no está del todo confirmado, sin embargo, la hipótesis más aceptada es que estos se unen al sitio activo de las HDAC, bloqueando de esta manera la capacidad de eliminar los grupos acetilo de las colas de las histonas (Acuña, 2017; Liang *et al.*, 2023).

De acuerdo con lo anterior, las HDACI pueden contribuir a la regulación y mejoramiento de los procesos celulares que se encuentran alterados, por medio de la consecuente acetilación de histonas para la expresión de genes encargados de la detención de la proliferación y la migración, así como de la estimulación de la diferenciación y la apoptosis celular (Chavez *et al.*, 2020; Luna-Palencia *et al.*, 2019).

Se tienen diferentes tipos de HDACI y pueden ser clasificados en cuatro clases de compuestos (**Tabla 3**): ácidos grasos de cadena corta donde se encuentran el butirato de sodio, el propionato de sodio y el VPA; ácidos hidroxámicos que incluyen la tricostatina A y el vorinostat; benzamidas donde están el entinostat y el mocetinostat; y tetrapéptidos cíclicos que incluye a la romidepsina y al FK235222 (Movafagh & Munson, 2019; Pu *et al.*, 2024).

Tabla 3. Clasificación de los HDACI

Compuestos	HDACI	Sustrato
Ácidos grasos de cadena corta	Butirato de sodio Propionato de sodio VPA	HDAC clase I y II
Ácidos hidroxámicos	Tricostatina A Vorinostat	Todas las clases de HDAC
Benzamidas	Entinostat Mocetinostat	HDAC clase I
Tetrapéptidos cíclicos	Romidepsina FK235222	HDAC clase I

(Pu *et al.*, 2024; Shanmugam *et al.*, 2022)

A pesar de que los compuestos anteriores sean considerados HDACI, no todos actúan sobre todas las HDAC, por lo que pueden clasificarse en dos grupos: los que son específicos para un tipo de HDAC en donde se encuentran los ácidos grasos de cadena corta, las benzamidas y los tetrapéptidos cíclicos; y los que pueden actuar sobre todos los tipos de HDAC (pan-HDACI), que son los ácidos hidroxámicos (**Tabla 3**) (Shanmugam *et al.*, 2022). Así pues, estos han mostrado diferentes efectos sobre las células, es decir, pueden llevar a las células al arresto

del ciclo celular mediante la sobre expresión de *p21*, que se encarga de inhibir los complejos ciclina-CDK que promueven la progresión del ciclo celular, o bien, pueden inducir la apoptosis mediante la sobre expresión de genes pro apoptóticos como *Bim* y *Bmf* para la vía intrínseca, o *TRAIL* y *DR5* para la vía extrínseca de este tipo de muerte celular (Kim & Bae, 2011).

2.3.1 Ácido valproico

El VPA (2-n-propilpentanoico) es un ácido graso ramificado con una estructura similar a la de los ácidos grasos de cadena corta contando con 8 carbonos, se utiliza principalmente como tratamiento para diferentes padecimientos neurológicos como la epilepsia, trastorno bipolar y migraña. Este compuesto se metaboliza principalmente en el hígado por tres diferentes vías; la glucuronidación, la β -oxidación y la oxidación mediada por citocromo P450 (CYP), siendo la primera vía la principal (**Figura 4**) (Ghodke-Puranik *et al.*, 2013).

- Glucuronidación: esta vía está mediada por uridina difosfato-glucuronil transferasas (UGT) y participan enzimas como la UGT1A3, la UGT1A4, la UGT1A6, la UGT1A8, la UGT1A9, la UGT1A10 y la UGT2B7, las cuales van a generar el glucurónido valproato que es el principal metabolito que se excreta a través de la orina (Ghodke-Puranik *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2017).
- β -oxidación: en esta vía, que ocurre en la mitocondria, se generan diferentes metabolitos a partir del 4-ene-VPA, algunos de los cuales, son hepatotóxicos (Ghodke-Puranik *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2017).
- Oxidación mediada por citocromo P450: esta es la vía que se da en menor proporción. En esta participan enzimas como la CYP2C9, la CYP2A6 y en menor medida la CYP2B6 teniendo como producto del VPA, al 4-ene-VPA, al 4-OH-VPA y al 5-OH-VPA, siendo estas dos últimas, formas inactivas (Ghodke-Puranik *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2017).

Por otro lado, su farmacodinamia se basa en el bloqueo de canales de sodio dependientes de voltaje para que de esta manera disminuya la excitabilidad neuronal. De igual manera, este compuesto inhibe la acción de la enzima ácido

gamma-aminobutírico (GABA) transaminasa, la cual es responsable de la degradación de GABA, que es un neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central (SNC); al ser inhibida esta enzima, se presenta un incremento tanto en los niveles como en la actividad de GABA, de manera que se reduce la alta excitabilidad neuronal (**Figura 5**) (Rahman *et al.*, 2024).

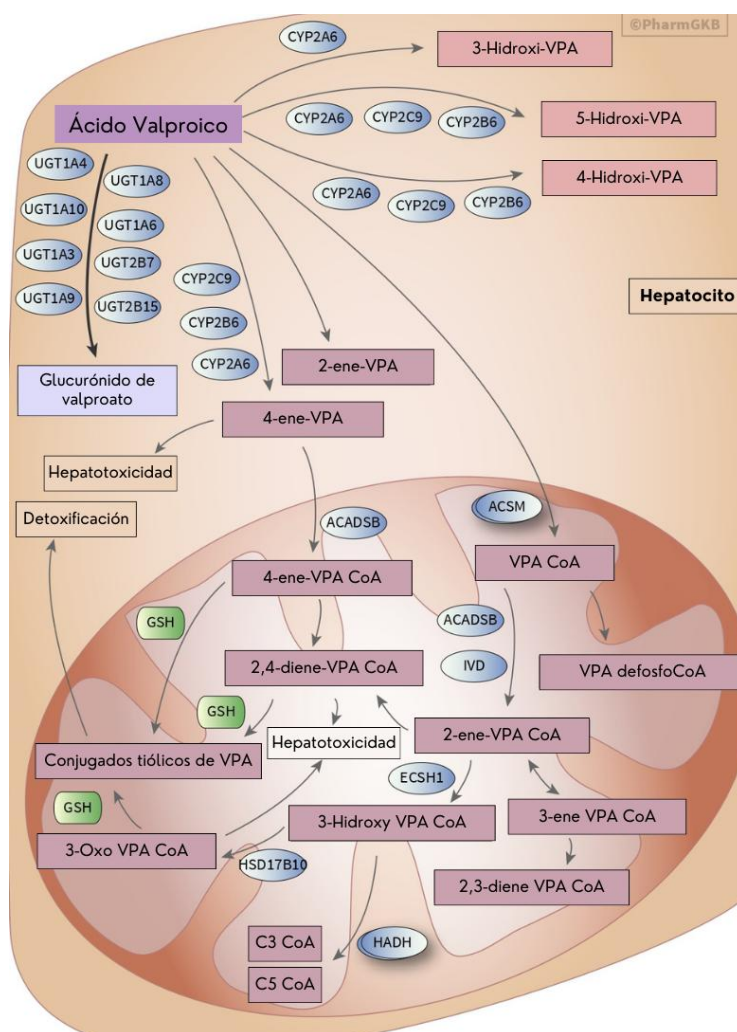


Figura 4. Farmacocinética del VPA.

El VPA se metaboliza en el hígado por 3 vías diferentes, en las que participan diferentes proteínas como las uridina difosfato-glucuronil transferasas (UGT) en la vía principal que es la glucuronidación, o citocromo P450 (CYP) para la vía de oxidación mediada por CYP. De igual manera, se tiene otra vía que se lleva a cabo en las mitocondrias generando metabolitos que resultan ser tóxicos. Modificada de Ghodke-Puranik *et al.*, *Pharmacogenetics and Genomics* (2013).

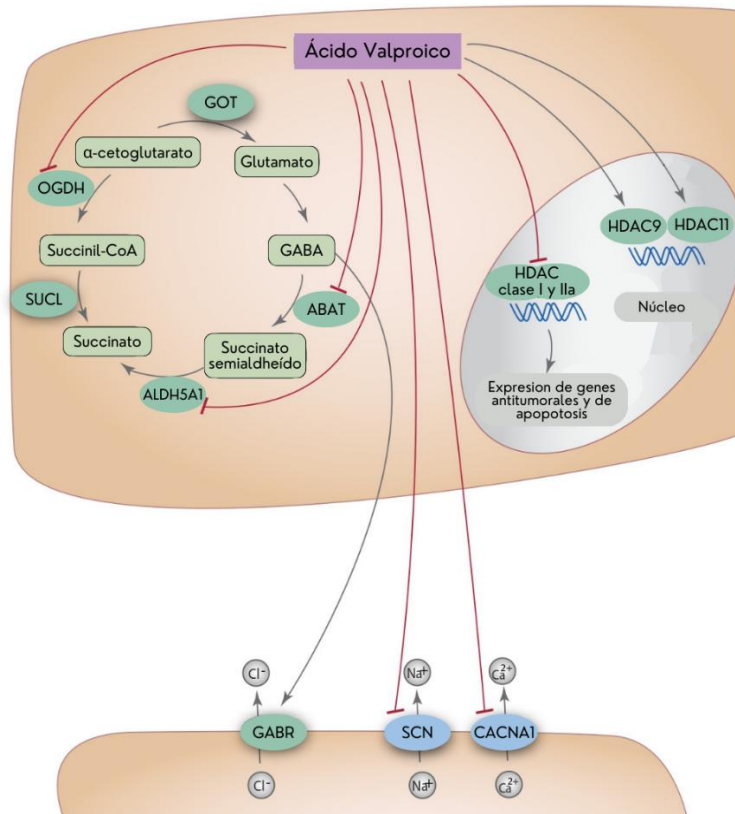


Figura 5. Farmacodinamia del VPA.

El VPA además de tener efectos a nivel neuronal para tratar padecimientos como la epilepsia a través del bloqueo de canales de sodio y calcio, y la inhibición de la actividad de la GABA transaminasa, también tiene efectos inhibitorios sobre las HDAC de clase I y IIa. Modificada de Ghodke-Puranik *et al.*, *Pharmacogenetics and Genomics* (2013).

2.3.1.2 Ácido valproico y cáncer

Además de lo anterior, se ha descrito que el VPA tiene un efecto sobre las enzimas HDACs, específicamente las HDAC de clase I y clase IIa, bloqueando con su extremo carboxilo el sitio catalítico de las HDAC para que su sustrato no pueda unirse, provocando que las histonas puedan ser acetiladas y transcribir los genes de algunas proteínas como p53, caspasa 3, Bax, p21, p27, que están implicados tanto en la regulación del ciclo celular, así como en la apoptosis ya que se genera un efecto inhibitorio sobre la ciclina D1 (detención del ciclo celular), así como en la Bcl-2 (anti apoptótica) (Lipska *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021). De tal manera que, el VPA se ha ido utilizando en investigaciones contra el cáncer, ya que, presenta efectos positivos para la regulación en diferentes tipos de neoplasias, tal como lo

describió Aztopal *et al.* (2018), quienes encontraron que este HDACI indujo la muerte celular por apoptosis, así como un incremento en la acetilación de la histona H3 de manera dosis-tiempo dependiente en la línea celular MCF-7.

Una característica de este compuesto, y de otros HDACI, es que tienen efectos diferentes en cada tipo celular ya que, en líneas celulares de cáncer de próstata, por ejemplo, el VPA induce la expresión de *p21*, así como del gen *TIMP-3* (que participa en la inhibición de la proliferación, invasión y metástasis celular), además de que promueve la apoptosis; y, en modelos *in vivo*, se ha observado la reducción del volumen del tumor (Thelen *et al.*, 2004; Q. Xia *et al.*, 2006).

En el caso del cáncer gástrico, este HDACI bloquea la actividad de HDAC1 teniendo efectos negativos sobre Akt, y activa a PTEN provocando la diferenciación, así como la inhibición de la proliferación celular, aumentó la expresión de la proteína pro apoptótica Bax y disminuyó la de la proteína anti apoptótica Bcl-2 (Sun *et al.*, 2020).

De igual manera, se ha visto que, en el cáncer de pulmón de células no pequeñas, el VPA disminuye la viabilidad celular y aumenta la expresión de genes como *Nmh23-H1*, el cual es un gen supresor de tumor y evita el proceso de metástasis (Kalantar *et al.*, 2021). También se ha visto el comportamiento de este compuesto en CRC, en el que se ha observado un aumento en la acetilación de las H3 y H4, así como de algunas proteínas supresoras de tumores como p19, p21 y p27; y la disminución de CDK1, CDK2, CDK4, provocando de esta manera arresto del ciclo celular, disminución de la viabilidad celular así como apoptosis (Strey *et al.*, 2011)

Así mismo se ha evaluado si el uso del VPA tiene efectos en la prevención y riesgo de padecer algún tipo de cáncer. Chavez *et al.* (2020) observaron que la exposición a este compuesto está relacionado a una baja incidencia de padecer melanoma comparado con individuos que no fueron expuestos a dicho fármaco. Previamente, Singh *et al.* (2011) ya habían reportado que se tenía un riesgo más bajo de padecer algún tipo de cáncer en personas que habían sido tratadas con VPA por más de cinco años, comparado con aquellas que lo consumieron por un tiempo más corto, por lo que existe la posibilidad de presentar cierto efecto protector contra el cáncer mientras más tiempo se esté expuesto al fármaco.

2.4 Hormonas tiroideas

Las HT son moléculas sintetizadas en la glándula tiroides, presentes tanto en la circulación sanguínea como a nivel intracelular. Estas hormonas son la tiroxina (T4) y la triyodotironina (T3), principalmente; sin embargo, también se pueden encontrar la triyodotironina reversa (rT3) y la diyodotironina (T2). Las HT se derivan de la tirosina y cada una está diferenciada por la cantidad de átomos de yodo que contiene; la T4 presenta en su estructura cuatro átomos de yodo unidos a los dos anillos en las posiciones 3, 5, 3' y 5' (3, 5, 3', 5'-Tetrayodotironina); y la T3 tiene tres átomos de yodo en las posiciones 3, 5, y 3' (3, 5, 3'-Treyodotironina) (**Figura 6**) (Liu *et al.*, 2020).

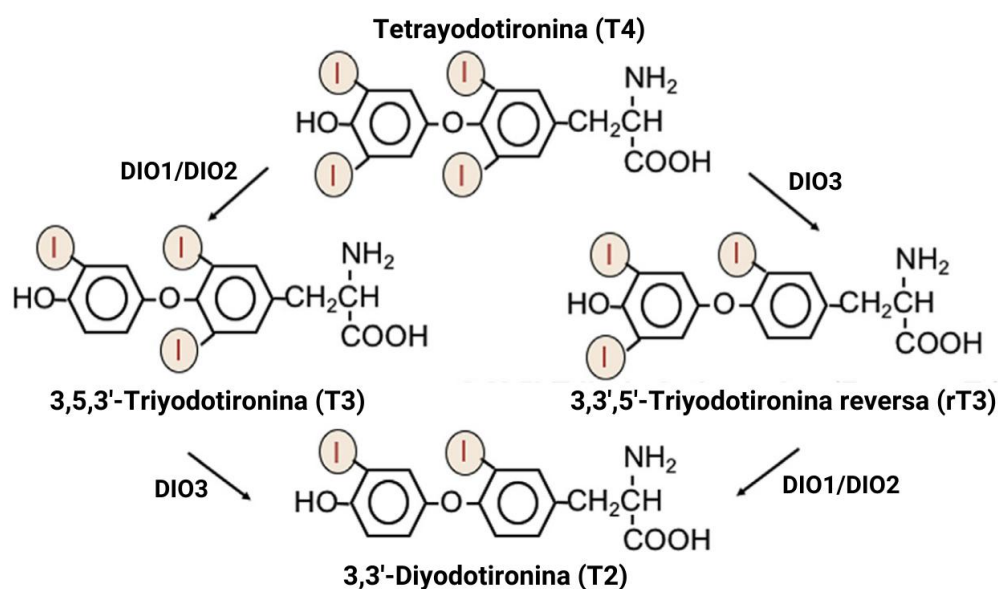


Figura 6. Hormonas tiroideas y desyodasas.

Las desyodasas actúan sobre los anillos internos y/o externos de las TH para ser activadas o inactivadas. Modificado de Liu *et al.*, *Hormonal Signaling in Biology and Medicine* (2020).

La forma en la que las HT ejercen su función dentro de las células puede ser de dos maneras diferentes teniendo así, los mecanismos genómicos y los no genómicos (**Figura 7**); en los primeros se tiene como objetivo la regulación de genes específicos que se logra con el ingreso de la T4 y la T3 a la célula con ayuda de transportadores, como por ejemplo los transportadores de monocarboxilatos (MCT8

y MCT10). Una vez dentro, la T4 va a pasar a convertirse en T3 mediante el proceso de desyodación para que así, esta última se una con el heterodímero formado por el Receptor Nuclear de HT (TR) y el Receptor del Retinoide X (RXR) formando el complejo T3-TR y se transloque al núcleo en donde se une de manera específica a secuencias cortas de DNA, conocidas como elementos de respuesta a hormonas tiroideas (TREs), para dar paso al reclutamiento de coactivadores (CoA) para que se pueda llevar a cabo la transcripción de genes. Sin embargo, si no hay T3 que se una a su TR, los correpresores (CoR) impedirán que se lleve a cabo la transcripción (Lam De Calvo & Castillero De Santos, 2021; Liu *et al.*, 2020).

Con respecto al mecanismo no genómico de las HT, se tiene la participación del receptor de membrana $\alpha\beta 3$ al que se le puede unir tanto la T3 como la T4, siendo esta última la más afín, promoviendo la activación de diferentes vías de señalización, como MAPK-ERK1/2, PI3K/AKT, Wnt/ β -catenina y SHH, que influyen en la proliferación, muerte celular, y en la angiogénesis. De manera interesante, estas vías de señalización se han visto afectadas en enfermedades como el CRC, teniendo como consecuencia una alteración en el correcto funcionamiento celular (Goemann *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2020).

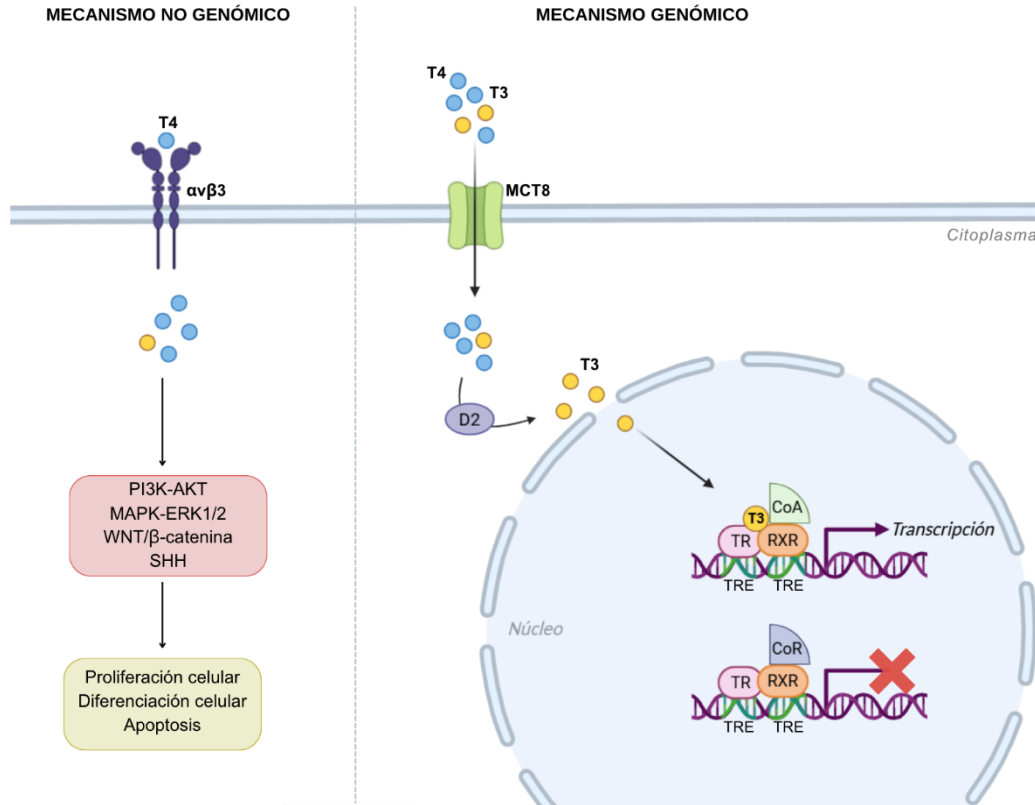


Figura 7. Mecanismos genómicos y no genómicos de las HT.

En el mecanismo genómico: las TH ingresan a las células con ayuda de transportadores como el MCT8 para que, una vez dentro, sean activadas y se puedan unir al heterodímero TR-RXR, el cual, a su vez, se acopla, dentro del núcleo, a los TRE y, con la ayuda de coactivadores (CoA) se pueda llevar a cabo la transcripción de genes. En caso contrario, en donde no se una la T3 al heterodímero, no se llevará a cabo la transcripción debido a la acción de los correpresores (CoR). Por otro lado, en el mecanismo no genómico: las TH ejercen su función en el citoplasma de la célula en donde activan diferentes vías de señalización que tienen efectos sobre el funcionamiento celular.

Teniendo en cuenta lo anterior, las HT están relacionadas con diferentes vías de señalización y, a su vez, con los procesos neoplásicos, siendo un ejemplo de esto la vía de señalización Wnt/ β -catenina, la cual está implicada en procesos celulares como la proliferación y migración celular. En esta vía se tiene la participación de la β -catenina, una proteína que se encuentra en el citoplasma pero que puede traslocarse al núcleo para poder unirse y formar un complejo con el factor de células T (TCF)/factor potenciador linfocitario (LEF), provocando que este se una a secuencias de DNA específicas para la promoción de la transcripción de genes diana como *CCDN1*, *MYC*, *ASCL2*, etc., sin embargo, cuando no se activa esta señalización, la

β -catenina es degradada. Pero, en eventos como el cáncer, esta vía se encuentra alterada desencadenando la sobrepoblación de células malignas y migración a otros tejidos. Por otro lado, la β -catenina además de poder unirse a TCF/LEF, también puede interactuar con el TR β , de modo que no podrá ser degradada, llegando a acumularse y, de igual manera, promover la transcripción. A pesar de lo anterior, la T3 puede jugar un rol importante en este mecanismo, ya que, si existe suficiente cantidad de T3, esta se unirá con su receptor (TR β) provocando que la β -catenina se deslinda de este para que así pueda ser llevada al proteosoma (Guigon & Cheng, 2009; You *et al.*, 2022). Debido a lo mencionado, la T3 puede ser indispensable para evitar una sobreexpresión de genes que están relacionados con las características de las células cancerosas.

2.4.1 Desyodasas de yodotironinas

Para que las HT puedan ejercer su función y se encuentren de manera regulada, es necesaria la participación de las desyodasas de yodotironina (DIOs), enzimas encargadas de la activación e inactivación de las HT mediante la eliminación de uno de sus átomos de yodo del anillo interno o externo, de tal manera que estas enzimas regulan las HT determinando su producto final (**Figura 6**) (Sabatino *et al.*, 2021).

Las DIOs son proteínas de membrana con un peso molecular que va de 29 a 33 kDa y se encuentran como homodímeros. Cuentan con un dominio transmembrana (extremo N-terminal), un dominio bisagra y un dominio globular, este último está dirigido hacia el citosol y es el que contiene el sitio activo para poder llevar a cabo la desyodación de las HT; en este sitio está localizado el aminoácido selenocisteína (Sec), que es un análogo de la cisteína (Cys) (en lugar del átomo de azufre se tiene un átomo de selenio) y está codificado por el codón de término UGA; de tal manera que, las DIOs son consideradas selenoproteínas. Esta codificación se puede llevar a cabo debido a que el UGA va a ser reconocido como codón para la inserción del aminoácido Sec, mediante la secuencia de inserción de Sec (SECIS), que es característica de los mRNA de este tipo de proteínas (Bianco & Da Conceição, 2018; Paragliola *et al.*, 2020).

Las DIOs comprenden tres tipos, la desyodasa de yodotironina tipo 1 (DIO1), la tipo 2 (DIO2) y la tipo 3 (DIO3) (**Tabla 4**) que se encuentran ubicadas en distintos sitios dentro de la célula. La DIO1 está codificada por el gen *DIO1*, se localiza en la membrana plasmática de las células de órganos como la glándula tiroidea, el hígado y el riñón, y puede ejercer su función en el anillo interno de las HT, de manera que va a convertir la T4 en rT3 mediante la remoción de un átomo de yodo en la posición 5, o bien, puede catalizar la desyodación del anillo externo, en la posición 5' obteniendo T3 a partir de T4, siendo este último mecanismo el principal para suministrar HT activa a circulación (Goemann *et al.*, 2018; Köhrle & Frädrich, 2022).

En cuanto a la DIO2, codificada por *DIO2*, además de encontrarse en la glándula tiroides también se puede localizar en una variedad más amplia de órganos como el esófago, la próstata, la piel, el cerebro, el cuello uterino y el corazón; esta va a activar a las hormonas tiroideas mediante la eliminación del átomo de yodo del anillo externo de la molécula (posición 5'), pasando de T4 a T3; dicha activación es la principal responsable de la formación y disponibilidad de T3 a nivel intracelular (Goemann *et al.*, 2018; Lam De Calvo & Castillero De Santos, 2021).

Por último, la DIO3, que está codificada por el gen *DIO3*, está presente, principalmente, en el desarrollo embrionario en órganos como el hígado, las gónadas, la corteza cerebral, el intestino, así como en la placenta, ejerciendo una función de protección para el embrión contra un exceso de HT; sin embargo, también se ha identificado en la piel en la etapa adulta. La DIO3 actúa sobre el anillo interno de las moléculas (posición 5) y, de manera contraria a lo que hace la DIO2, esta inactiva a las HT, de modo que a partir de la T4 y de la T3 se obtiene rT3 y T2, respectivamente (Goemann *et al.*, 2018; Köhrle & Frädrich, 2022; Lam De Calvo & Castillero De Santos, 2021).

Tabla 4. Características de las DIOs

Proteína	DIO1	DIO2	DIO3
Gen codificante	<i>DIO1</i>	<i>DIO2</i>	<i>DIO3</i>
Localización tisular	Glándula tiroidea, hígado, riñón	Glándula tiroidea, esófago, próstata, piel, cerebro, cuello uterino, corazón.	Tejidos embrionarios (hígado, gónadas, corteza cerebral, intestino), placenta y piel.
Localización celular	Membrana plasmática	Retículo endoplásmico	Membrana plasmática
Sustrato preferente	Anillo externo (5') e interno (5)	Anillo externo (5')	Anillo interno (5)
Hormona que catalizan	T4 y T3	T4	T4 y T3
Producto	T3, rT3 y T2	T3	rT3 y T2

(Goemann *et al.*, 2018; Köhrle & Frädrich, 2022)

2.5 Fisiología de las hormonas tiroideas y las desyodasas

Para el correcto funcionamiento y equilibrio tanto de las DIOs como de sus productos finales, es necesario que sean reguladas tanto su actividad como su expresión, y esto depende, en parte de las condiciones y necesidades de cada tipo celular; y, a pesar de que las tres enzimas son muy parecidas entre sí, tienen mecanismos de regulación diferentes.

En el caso de la DIO1, su actividad y expresión son reguladas a nivel transcripcional, es decir, la T3, a través del mecanismo genómico, va a promover la activación de la transcripción del gen de esta desyodasa. Por el contrario, la regulación de la expresión de *DIO2* también está regulada por la T3, pero en lugar de promover su transcripción, la reprime. Mientras que su actividad está mediada a nivel postraducciona por la acción de la T4, además, en presencia de esta, su degradación mediante proteólisis puede verse acelerada. Por último, la DIO3, también resulta estar regulada por la acción de la T3 a nivel transcripcional (Köhrle & Frädrich, 2022; Paragliola *et al.*, 2020).

De igual manera, se pueden tener otras moléculas como lo son el TGF- β , FGF, EGF, así como proteínas de la familia Hedgehog que pueden intervenir en la disponibilidad tanto de las tres DIOs como de las HT. Ya que, por ejemplo, en el caso de la vía de señalización Hedgehog (Hh), que está implicada en la regulación de la proliferación y diferenciación celular, se puede promover, al menos en células como los condrocitos, la ubiquitinación y posterior proteólisis de la DIO2, trayendo como consecuencia una disminución de la T3 (**Figura 8**); en el caso en el que haya una sobre actividad de la DIO2 y, por ende, altas cantidades de la HT activa, se puede tener como consecuencia una inhibición de condrocitos (Dentice, 2011).

Teniendo en cuenta lo anterior, es importante que se cuente con un correcto funcionamiento de todas las proteínas y/o moléculas implicadas en mantener una regulación de las desyodasas ya que estas están estrechamente relacionadas con la disponibilidad de las HT que, a su vez, participan activamente en mantener un equilibrio de las propiedades celulares. Esto se ve reflejado, por ejemplo, en los adipocitos, ya que estos juegan un rol sumamente importante en la termogénesis. En un estado normal y, ante la percepción de un ambiente frío, la activación de la HT a través de la DIO2 está mediada por el cAMP, es decir, este cAMP, promueve la expresión y actividad de la DIO2. La T3 producida induce la activación de la transcripción de genes relacionados a la termogénesis, como *UCP-1*; sin embargo, si existe algún descontrol a nivel de la desyodasa y/o de la HT, este mecanismo de generación de calor se verá afectado (Bianco & Kim, 2009; Marsili *et al.*, 2011).

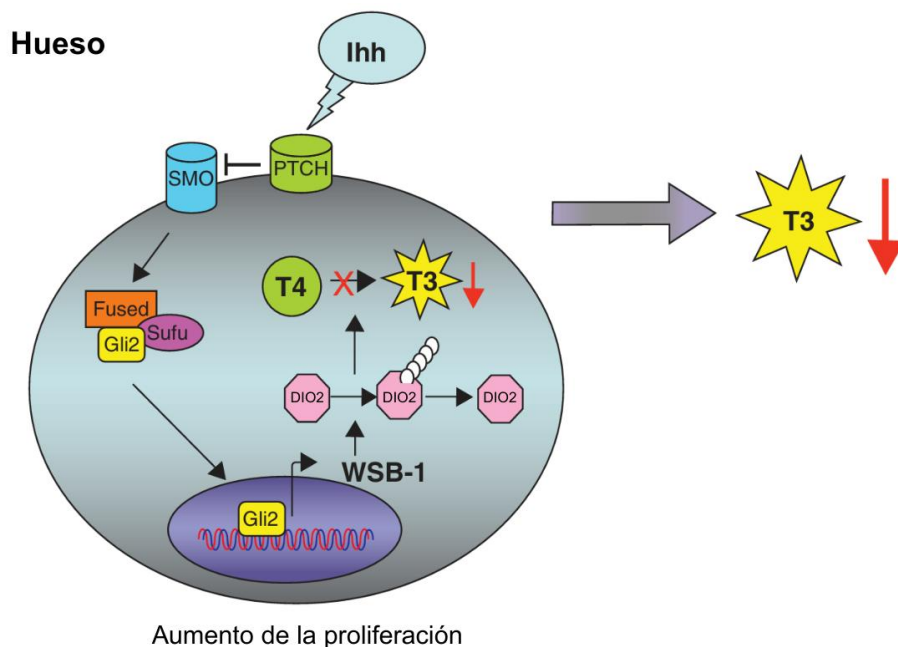


Figura 8. Regulación de T3 en la vía de señalización Hedgehog.

En células del hueso, las proteínas de la familia Hedgehog pueden participar en la disponibilidad de T3 mediante la regulación de la DIO2. A partir de la activación de esta vía se expresa WSB-1, que es una proteína que participa en el proceso de ubiquitinación de la DIO2 para su degradación en el proteosoma, afectando de esta manera la activación de la T3 a partir de la T4. Modificado de Dentice. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* (2011).

2.6 Desyodasas de yodotironinas y cáncer

Debido a que las HT están implicadas en diferentes mecanismos celulares, se puede presentar una desregulación de estas en procesos cancerígenos, teniendo consecuencias sobre el aumento o disminución en el desarrollo y crecimiento de tumores. De igual manera y, como se ha visto anteriormente, estas hormonas pueden afectar diversas vías de señalización que, además de participar en el proceso de carcinogénesis y de supresión de tumores, pueden, igualmente, alterar la expresión de las desyodasas de yodotironinas, de tal modo que pueden verse inhibidas o sobre expresadas en los diferentes tipos de cáncer (Luongo *et al.*, 2019).

La desyodasa que ha tenido mayores reportes en cuanto a su desregulación en una gran variedad de cánceres es la DIO3, la cual, en condiciones normales, no se encuentra tan expresada como la DIO1 y la DIO2 ya que sólo participa en la

protección del feto contra la exposición a cantidades excesivas de HT; sin embargo, en diversos tumores está sobre expresada; mientras que el resto de las enzimas, están reguladas a la baja (Luongo *et al.*, 2019), por tal motivo, la cantidad de HT activa se verá afectada por la acción de la DIO3 ya que se encargará de inactivar tanto a la T4 como a la T3, sin poder ser restablecidas por la falta de la DIO1 y de la DIO2.

De tal manera que, si se restablece la expresión de la DIO1 y la DIO2, se puede llegar a tener efectos favorables para el control de la neoplasia. Poplawski *et al.* (2017), mostraron que la inducción de la expresión de DIO1 en células de cáncer renal, atenúa la expresión de diferentes genes que participan en los procesos de desarrollo y crecimiento de tumores.

La expresión de las tres enzimas desyodasas es diferente en las neoplasias, como ejemplo tenemos que, en el cáncer de pulmón, la actividad de la DIO1 se encuentra disminuida, la de DIO2 se encuentra normal y la expresión del mRNA de DIO3 está reducido; en el cáncer de mama, tanto la proteína como el mRNA de DIO1 están incrementados, la expresión del mRNA de DIO2 varía de acuerdo con los subtipos y la expresión de mRNA de DIO3 está incrementada. En cuanto al carcinoma de células basales sólo se tiene información acerca de la expresión de la DIO2 y la DIO3, en la primera se tiene un incremento de la expresión de mRNA y hay actividad de la proteína, y para la segunda, se tiene un aumento tanto en el mRNA como en los niveles de actividad proteica. Y, como consecuencia de estas alteraciones, se tendrá, en general, una disminución de la T3 a nivel intracelular, pudiendo promover el proceso de proliferación de las células tumorales (Goemann *et al.*, 2018).

2.6.1 Desyodasas de yodotironinas y cáncer de colon

Como se mencionó previamente, las desyodasas de yodotironinas se encuentran desreguladas en diferentes tipos de cáncer y el CRC no es la excepción; en este se encuentra una sobre regulación del mRNA de *DIO3*, así como una elevada expresión de la enzima comparada con el tejido normal. Por otra parte, el mRNA de *DIO2* está presente en este tipo de cáncer, sin embargo, la expresión es menor o nula a comparación de la de *DIO3*. Ambas enzimas, a pesar de encontrarse en

este tipo de neoplasia, se encuentran en cantidades diferentes de acuerdo a la línea celular, ya que en las células HCT-116 se ha visto una expresión menor de ambas que en las células HT-29, lo cual puede deberse al estadio de cada línea celular (Rostkowska *et al.*, 2022).

Igualmente, esta alteración entre la expresión de la DIO2 y la DIO3, puede contribuir a una desregulación de las HT ya que, se ha descrito que cuando se inhiben los niveles de la DIO3 y se incrementa la expresión de la T3, se producen cambios importantes en la célula como la disminución en la proliferación celular; por lo que en las células HCT-116 se tuvo un cambio muy notorio, resultado de la baja expresión de DIO3 que, de manera basal, presenta (Rostkowska *et al.*, 2022).

A pesar de lo anterior, la información acerca de las desyodasas en el cáncer colorrectal e, incluso, en el colon en estado sano es sumamente escasa. Es importante tener nuevas opciones para generar nuevas estrategias para el mejor manejo de esta enfermedad. De tal manera que teniendo como base el rol que juega el VPA sobre diferentes tipos de cáncer, entre ellos el CRC, donde se han evaluado no sólo los efectos a nivel celular sino también los posibles efectos protectores de este medicamento en el área clínica contra el riesgo de desarrollar cáncer, se propone hacer uso de este para tener una mejor comprensión de los procesos y mecanismos moleculares, que están implicados y que se ven afectados como lo es la expresión de posibles nuevos genes diana.

3. HIPÓTESIS

El VPA aumentará la expresión del mRNA de las desyodasas tipo 1 y 2 y reducirá la tipo 3 en la línea celular de CRC humano HT-29.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Analizar el efecto del VPA sobre la expresión del mRNA de las desyodasas de yodotironinas tipos 1, 2 y 3 en la línea celular de CRC humano HT-29.

4.2 Objetivos específicos

1. Determinar la concentración inhibitoria 50 del VPA sobre la línea celular de CRC humano HT-29.
2. Determinar la expresión basal del mRNA de las desyodasas de yodotironinas tipos 1, 2 y 3 en la línea celular de CRC humano HT-29.
3. Determinar el efecto dosis-respuesta del VPA sobre la expresión del mRNA de las desyodasas de yodotironinas tipos 1, 2 y 3 en la línea celular de CRC humano HT-29.
4. Determinar el curso temporal del efecto del VPA sobre la expresión del mRNA de las desyodasas de yodotironinas tipos 1, 2 y 3 en la línea celular de CRC humano HT-29.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Cultivo celular

El cultivo celular permite el mantenimiento de células *in vitro* preservando sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas, suministrando los nutrientes y el ambiente adecuados para su adecuado crecimiento (Thermo Fisher Scientific Inc., 2020).

Se utilizaron las células HT-29 obtenidas de la ATCC (American Type Culture Collection) y se cultivaron en cajas Petri (60 mm) con medio DMEM (Gibco) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB, Gibco) y 1 % de penicilina - estreptomicina bajo condiciones de temperatura de 37°C y CO₂ al 5 %. Después del segundo día de sembrado se cambió el medio cada dos días.

Las células se resembraron cuando alcanzaron un 80 – 90 % de confluencia, una vez alcanzado este porcentaje, se retiró el medio que tienen para posteriormente lavar las células con Buffer fosfato (PBS, Gibco); se agregó 1ml de Tripsina-EDTA 1x (Gibco), se dejaron incubar a 37° C por 5 minutos y, posteriormente, se despegaron las células mecánicamente. Para inactivar la acción de la tripsina se agregó 1 ml de DMEM suplementado y se homogenizó para colocarlas en un tubo cónico estéril de 15 ml. Se centrifugó a 800 rpm por 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y se restituyó el botón de células con 1 ml de DMEM suplementado. Las células fueron contadas usando azul de tripano y la cámara de Neubauer; se sembró la cantidad requerida para llevar a cabo el tratamiento o bien, para el pase de la línea celular.

5.2 Ensayo de viabilidad celular (MTT)

Este ensayo se basa en la reducción de una sal de tetrazolio de coloración amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio, o MTT) a cristales de formazán de color morado por la enzima mitocondrial succinato deshidrogenasa de las células que se encuentran activas metabólicamente, por lo tanto, la formación de cristales es proporcional al número de células viables (Sigma-Aldrich, 2024a).

Para esto, las células HT-29 se sembraron en una placa de 96 pozos (1×10^4 células/pozo) y se incubaron por 24 h en 100 μ l medio DMEM suplementado. Posteriormente, se suministró el tratamiento de VPA (Sigma) que fue disuelto con medio DMEM suplementado, bajo las concentraciones requeridas (0.5 – 50 mM) por diferentes lapsos de tiempo (24 h, 48 h y 72 h). Pasado el tiempo de exposición, se eliminó el sobrenadante y se agregaron 200 μ l de DMEM suplementado y 20 μ l de MTT (5 mg/ml diluido en PBS) a cada pozo para después incubar a 37° C con CO₂ al 5 % por 1 hora. Se descartó la solución de incubación y se agregaron 100 μ l de DMSO; se homogenizó hasta disolver los cristales formados para posteriormente medir la absorbancia a una longitud de onda de 570 nm con ayuda del lector de placas Varioskan (Thermo Fisher Scientific).

5.3 Extracción de RNA

Esta técnica se basa en el aislamiento de los ácidos nucleicos de todos los componentes celulares para posteriormente realizar un estudio de expresión génica (usando RNA) o de alteraciones en ciertos genes (usando DNA), por ejemplo. Las etapas fundamentales de la extracción de ácido nucleicos incluyen lisis de membranas celulares, extracción de RNA o DNA y purificación. Un método, comúnmente utilizado es el de fenol-cloroformo, en donde a través de la centrifugación se obtiene la fase orgánica, la interfase y la fase acuosa en donde se encuentran los ácidos nucleicos (Promega, 2024).

Para la extracción de RNA se utilizaron 500, 000 células sembradas en cajas de 6 pozos previamente sometidas a las concentraciones elegidas de VPA (0.5, 1, 2, 4 y 5 mM) por 24, 48 y 72 h. Pasado el tiempo de exposición, se descartó el sobrenadante, las células se lavaron con PBS y se añadieron 500 μ l de TRIzol Reagent (Invitrogen) para despegar enérgicamente las células; se recuperaron en tubos de 1.5 ml y se colocaron a 4°C por 5 minutos, posteriormente, fueron añadidos 100 μ l de cloroformo por cada 500 μ l de TRIzol, se centrifugaron a 12, 000 rpm durante un tiempo de 18 minutos a 4°C donde se recuperó la fase acuosa a partir de las diferentes fases obtenidas. Esta se colocó en un tubo nuevo para poder precipitarlo mezclándolo con un volumen igual de isopropanol y se dejó en

congelación (-20°C) por 7 días. Una vez transcurrido el tiempo, se centrifugaron a 12, 000 rpm por 18 minutos a 4°C, se decantó el isopropanol y, el botón obtenido, se resuspendió en 500 µl de etanol al 75% por 20 - 30 segundos. Nuevamente se centrifugó a 12, 000 rpm por 10 minutos a 4°C, descartando, posteriormente, el etanol. Por último, se secó el botón obtenido con un cotonete estéril y se resuspendió con 15 µl de agua libre de nucleasas.

Una vez extraído el RNA, se utilizaron 2 µl de cada muestra y fueron colocados sobre el equipo NanoDrop Lite Plus (Thermo Fisher Scientific), el cual nos arrojó la concentración de RNA presente, así como la pureza de estas con la relación de absorbancias A260/280 y A260/230, donde valores menores de 1.6 son indicativos de contaminación por proteínas y fenoles, respectivamente.

5.4 Síntesis de cDNA

A partir de las muestras de RNA, se procedió a la síntesis de cDNA siguiendo el protocolo del kit de síntesis de la primera cadena de cDNA RevertAid (Thermo Scientific). En tubos de 200 µl libre de nucleasas se colocó el RNA, los Random primers y el agua libre de nucleasas, se mezcló y se centrifugó. Posterior a esto, las muestras se llevaron al termociclador a 65°C por 5 minutos, después se dejaron a 4°C por 1 minuto. Se añadió el RiboLock (0.5 µl), el Reaction buffer (2 µl), los dNTPs (1 µl), así como la enzima RevertAid (0.5 µl); se homogenizó y se llevó, nuevamente, al termociclador a 25°C por 5 minutos, posteriormente a 45°C por 60 minutos, finalizando a 70°C por 5 minutos. Las muestras fueron almacenadas a -20°C.

5.5 RT-qPCR

La RT-qPCR es una técnica molecular que se basa en la amplificación selectiva de gen específico usando DNA complementario (cDNA) obtenido a partir de RNA monocatenario. Se utilizan varios ciclos que repiten tres fases: desnaturalización de la doble cadena de cDNA, hibridación, en la que se unirán los primers que flanquean la secuencia de interés; y la extensión, en la que se agregan nucleótidos y se obtienen hebras nuevas (Sigma-Aldrich, 2024b).

Para la preparación de las muestras se usaron tubos para PCR en los que se colocaron 3.4 µl de H₂O libre de nucleasas, 5 µl del Master mix SYBR Green (Applied Biosystems), 0.3 µl de cada uno de los primers (Forward y Reverse; T4 Oligo) de los genes a medir, diseñados con ayuda de la plataforma NIH (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (**Tabla 5**) y 1µl de cDNA obtenido. Una vez preparadas las muestras se llevaron al termociclador StepOne (Applied Biosystems) configurado con los ciclos correspondientes (95°C 10 min. / 95°C 15 seg. 62°C 40 seg. 72°C 10 seg. (40 ciclos) / 95°C 15 seg. 60°C 1 min. 95°C 15 seg.).

Tabla 5. Primers de los genes *DIO1*, *DIO2*, *DIO3* y *RPL32*

Genes	Primers	Tm	Número de pb	Temperatura de alineación
<i>DIO1</i>	F: GTGGTCGTGGGTAAAGTGCT R: CCAACGGACCTTCAAGACGA	60.25 59.97	171	62°C
<i>DIO2</i>	F: AAGAGCTTCCTCCTCGATGC R: GGCAAAGTCAAGAAGGTGGC	59.54 59.68	162	62°C
<i>DIO3</i>	F: CTCAACAGTGAAGGCGAGGA R: CCGAAATTGAGAACCAGCGG	59.68 59.55	242	62°C
<i>RPL32</i>	F: AAGGGCCAGATCTTGATGCC R: GCATTGGGGTTGGTGACTCT	60.11 60.25	233	64°C

5.6 Electroforesis

La electroforesis es una técnica que se basa en la separación de DNA, RNA o proteínas de acuerdo con su tamaño y carga eléctrica; estos pasan a través de los poros de un gel de agarosa (ácidos nucleicos) o de poliacrilamida (proteínas), siendo las moléculas más pequeñas las que se mueven más rápido que las de mayor tamaño (NIH, 2024).

Para llevar a cabo la electroforesis, se pesaron 450 mg de agarosa que se disolvieron en 30 ml de TAE 1 % con ayuda de calor para tener un gel a una concentración de 1.5 % de agarosa. Se agregaron 2 µl de gelRed (Biotium) al gel de agarosa antes de que comenzara a solidificar y se homogenizó. Posteriormente,

se vertió en el molde y se colocó el peine para definir los pozos. Una vez solidificado el gel, se puso en la cámara de electroforesis, en donde se agregaron, en el primer pozo, 5 μ l de una mezcla de 3 μ l del marcador de peso molecular y 3 μ l del buffer de carga; en los pozos siguientes, se colocaron 5 μ l de la mezcla de cada una de las muestras obtenidas a partir de la RT-qPCR, más el buffer de carga; posteriormente se conectó a corriente y, tras un tiempo aproximado de 30 min, el gel se colocó sobre el transiluminador UV para visualizar los amplicones.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 El VPA promueve la disminución de la viabilidad de las células HT-29

Utilizando el ensayo de viabilidad celular MTT, se observó el efecto citotóxico del VPA sobre la línea celular HT-29 a diferentes tiempos (24, 48 y 72 h) (**Figura 9**). El efecto del VPA sobre la viabilidad celular fue concentración y tiempo-dependiente, mostrando un comportamiento similar entre los tres tiempos a los que fueron sometidas las células, obteniendo una concentración inhibitoria 50 (IC50) de 19.6 mM, 12.6 mM y 11.0 mM a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente.

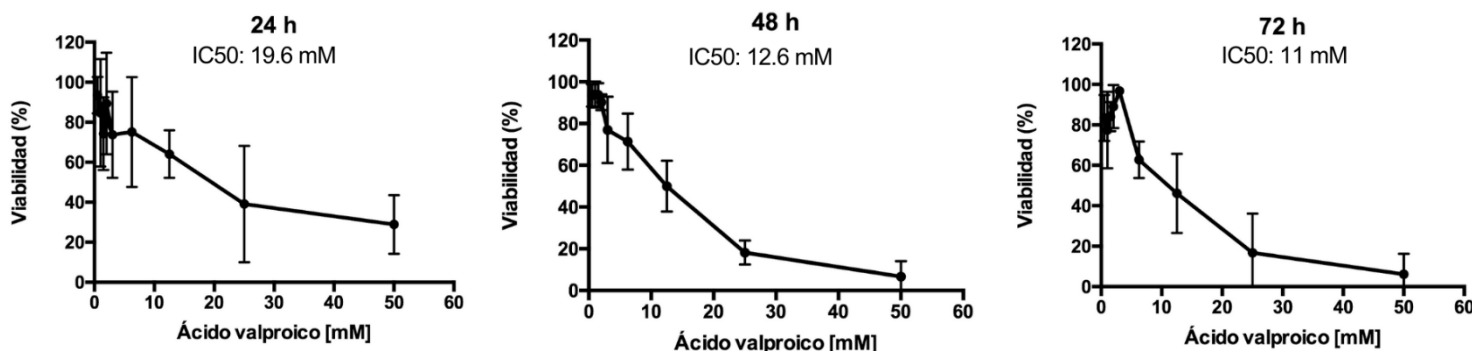


Figura 9. El VPA disminuye la viabilidad de las células HT-29 a las 24, 48 y 72 h.

Las células HT-29, sometidas a un rango de concentración de 0.5-50 mM de VPA, mostraron una disminución de la viabilidad de manera dosis dependiente en los tiempos en los que fue medido.

Se puede observar que, a las 24 h de exposición, las células llegan a una viabilidad cerca del 20% utilizando la dosis máxima (50 mM), mientras que, a las 48 y 72 h, la viabilidad es menor al 20%; de igual manera, a las 72 h, se observa un ligero aumento del porcentaje de células viables al usar las dosis más bajas, sin embargo, este comportamiento no se mantiene y tiende a disminuir.

El VPA se ha usado ampliamente y por mucho tiempo como medicamento para tratar patologías neurológicas como la epilepsia, sin embargo, se ha extendido su estudio sobre otros efectos como la viabilidad celular. Diversos estudios han demostrado que el VPA reduce la viabilidad celular, Injinari *et al.* (2021), observaron este efecto citotóxico sobre las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y MDA-

MB-231, donde tras 48 h de exposición al compuesto se obtuvo una IC₅₀ de 10 mM para ambas líneas celulares. Sanaei *et al.* (2018) observaron en la línea celular de CRC SW-48 que el VPA disminuyó la viabilidad celular, con una IC₅₀ de 5 mM a las 48 h. Estos datos sugieren que el comportamiento de las células con el VPA no es el mismo para todas, siendo unas más susceptibles que otras posiblemente por las características genéticas que posee cada una.

6.2 Las células HT-29 expresan de manera basal los genes *DIO1* y *DIO3*

En la **Figura 10A** se observa que las células HT-29 expresan basalmente los genes *DIO1* y *DIO3*. Como control positivo se utilizó a las células HepG2 y como control negativo agua libre de nucleasas.

En la **Figura 10B** se muestra la expresión los genes *DIO1*, *DIO2* y *DIO3* en la línea celular SW-480, como control positivo de la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* se utilizó a las células HepG2, y como control negativo agua libre de nucleasas.

La diferencia en la expresión de las desyodasas del control positivo (células HepG2) con las células SW-480, por ejemplo, se puede deber a que los hepatocitos no expresan el gen *DIO2* y las células HepG2, a pesar de tener su origen en un hepatocarcinoma, mantienen características de las células hepáticas normales (Cytion, 2025). Se ha descrito que la expresión de *DIO2* está relacionada con procesos de diferenciación celular; de manera que, poco tiempo después del nacimiento, se produce un incremento transitorio de *DIO2* en los hepatoblastos y conforme aumenta el número de células diferenciadas (hepatocitos) y, a pesar de que se mantiene la activación de cAMP (activador de la transcripción de *DIO2*), la inducción de este gen disminuye hasta tener una expresión nula (Hidalgo-Álvarez *et al.*, 2023).

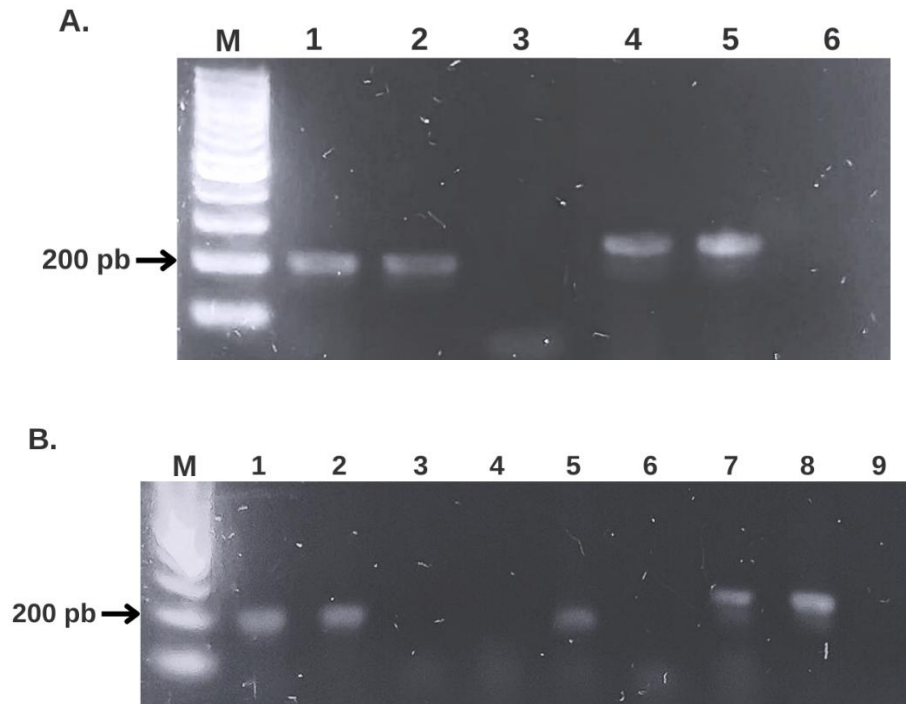


Figura 10. Las células HT-29 y SW-480 expresan de manera basal los genes de las desyodasas.

Productos de la RT-qPCR para los genes de las desyodasas en un gel de agarosa al 1.5%. **A.** Carriles: M. Marcador de peso molecular; 1. Control positivo para el gen *DIO1* (células HepG2); 2. Células HT-29 para el gen *DIO1*; 3. Control negativo (H₂O); 4. Control positivo para el gen *DIO3* (células HepG2); 5. Células HT-29 para el gen *DIO3*; 6. Control negativo (H₂O). **B.** Carriles: M. Marcador de peso molecular; 1. Control positivo para el gen *DIO1* (células HepG2); 2. Células SW-480 para el gen *DIO1*; 3. Control negativo (H₂O); 4. Células HepG2 para el gen *DIO2*; 5. Células SW-480 para el gen *DIO2*; 6. Control negativo (H₂O); 7. Control positivo para el gen *DIO3* (células HepG2); 8. Células SW-480 para el gen *DIO3*; 9. Control negativo (H₂O).

A pesar de que el gen *DIO3* es el que se expresa en varios tipos de cáncer, incluyendo las células de CRC, poco se sabe sobre la expresión de los genes *DIO1* y *DIO2*. Rostkowska *et al.* (2022) evidencian la expresión tanto de *DIO2* como de *DIO3* en las líneas celulares HCT-116 y HT-29, sin embargo, en nuestros resultados, la línea celular HT-29, expresaron los genes *DIO1* y *DIO3*, pero no el *DIO2*, esto puede tener diversos abordajes, ya que nosotros sólo utilizamos la RT-qPCR, mientras que dichos autores realizaron un Western blot, más no mostraron los transcritos; además es importante considerar que estas enzimas al ser proteínas de membrana y estar presentes en cantidades reducidas, es posible que la técnica que ellos utilizaron haya arrojado resultados falsos positivos.

A pesar de lo anterior, se puede tomar en cuenta la diferencia de la expresión de las desyodasas que fueron detectadas, lo cual es comparable con lo que nosotros obtuvimos, ya que las células HT-29 expresan los genes *DIO1* y *DIO3*, mientras que las células SW-480 expresan los tres genes.

Esta diferencia de la expresión entre líneas celulares que provienen de un adenocarcinoma colorrectal puede estar relacionado no sólo al estadio en el que se encuentran sino a las características moleculares que tiene cada una. Si abordamos en primer lugar el estadio de cada línea celular, encontramos que las células SW-480 tienen una clasificación clínica de Dukes B, mientras que las HT-29 pertenecen a la clasificación de Dukes C (Ahmed *et al.*, 2013), siendo esta última más agresiva y avanzada que la de Dukes B. De manera que, conforme el estadio del cáncer va aumentando, la expresión de los genes *DIO1*, *DIO2* y *DIO3* podría ir disminuyendo, y esto puede promover y ayudar a que este sea más agresivo y difícil de controlar. No obstante, también se tienen diferencias moleculares que pudiesen estar interfiriendo con la falta de expresión de algunos genes como el gen *DIO2*; es decir, las células SW-480 dentro de las características principales es que tienen mutados los genes *KRAS* y *TP53* y tienen inestabilidad cromosómica; mientras que las HT-29 tienen mutados genes como *APC*, *TP53*, *BRAF* y *PI3KCA*, tienen inestabilidad cromosómica y la diferencia a resaltar es que tienen un fenotipo metilador de las islas CpG (CIMP) (Ahmed *et al.*, 2013).

En consecuencia, si nos enfocamos en esta última característica podemos inferir que existe una alta tasa de metilaciones en los promotores de genes que de manera normal están activos, provocando la represión de la transcripción. En el caso del gen *DIO2*, es posible que pueda expresarse en el colon en cantidades disminuidas ya que no es un tejido diana principal, y si existe una hipermetilación en su promotor, es más susceptible a que se inhiba.

De igual manera, la inhibición de la expresión de este gen puede estar influenciada por otros mecanismos como proteínas que interactúan con el promotor de *DIO2*. Dentro de los descritos se encuentran cAMP, TTF-1 (factor de transcripción de

tiroides 1), GATA2 y la desmetilasa LSD-1 (Ambrosio *et al.*, 2013; Matsunaga *et al.*, 2015); sin embargo, aún es difícil asegurar si juegan o no un papel en el tejido colónico ya que los estudios que se tienen son en tejidos diana donde se transcribe del gen *DIO2*. A pesar de esto, se puede tener la hipótesis de que el promotor de dicho gen en colon sea similar al encontrado en músculo, hipófisis o tejido adiposo, específicamente durante el proceso de diferenciación celular (**Figura 11**); de ser así, podemos inferir la participación de LSD-1 y cAMP principalmente debido a su naturaleza de ser más flexibles en la aparición de tejidos diferentes a los diana. La desmetilasa LSD-1, con ayuda del factor de transcripción FoxO3, ejerce su función sobre la histona H3, misma con la que interactúa el promotor del gen *DIO2*, provocando que se lleve a cabo la transcripción (Ambrosio *et al.*, 2013). Siguiendo esta misma línea, podemos creer que en caso de que las células HT-29, que se encuentran desdiferenciadas, tienen una disminución de FoxO3 y que además muestran un aumento de la metilación, se les induzca el complejo LSD-1 – FoxO3 este pueda promover la desmetilación de la H3 que está unida al promotor del gen *DIO2*, y se lleve a cabo la expresión génica (**Figura 12**).

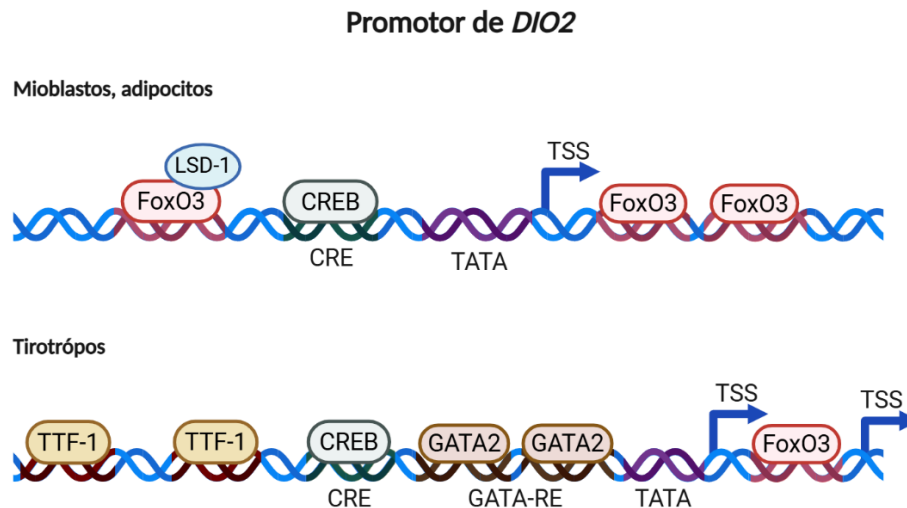


Figura 11. Representación del promotor de *DIO2* en diferentes tipos celulares.

El promotor del gen *DIO2* puede presentar ligeras diferencias entre tipos celulares en donde se expresa, sin embargo, se mantienen ciertas regiones como los elementos de respuesta a cAMP (CRE), y algunos sitios de unión de FoxO3. TSS: sitio de inicio de la transcripción; GATA-RE: elementos de respuesta a GATA; CREB: proteína de unión a CRE (Ambrosio *et al.*, 2013; Matsunaga *et al.*, 2015).

HT-29

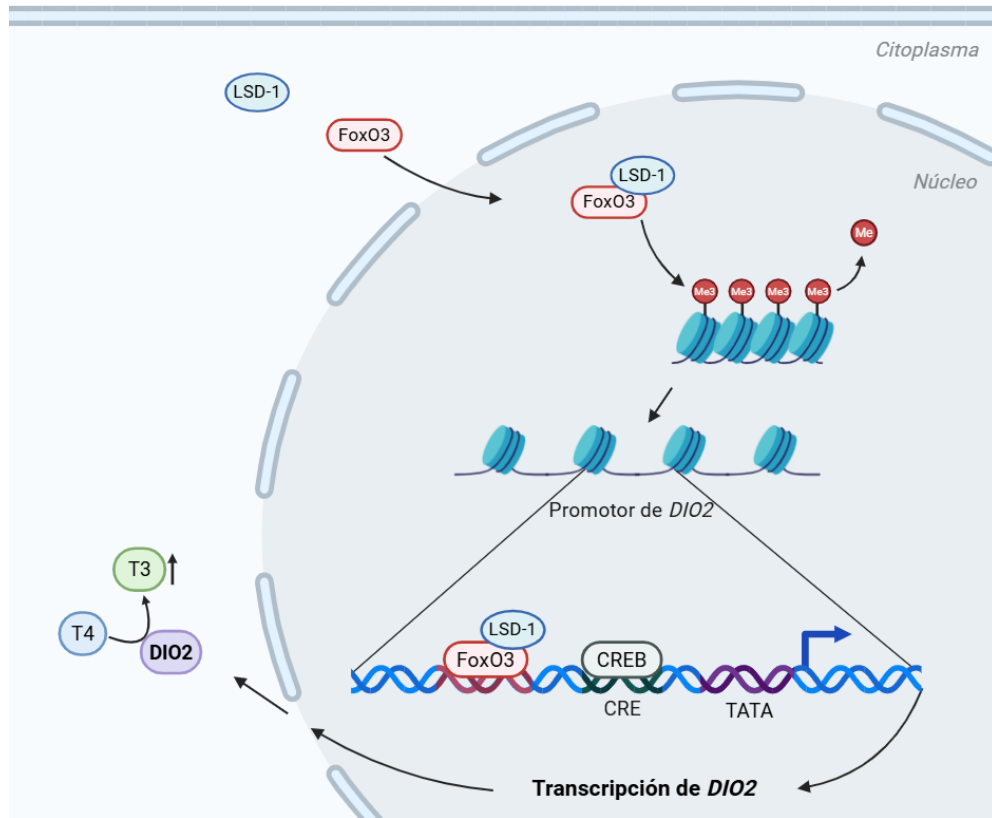


Figura 12. Posible mecanismo del complejo LSD-1 – FoxO3 sobre las células HT-29.

El complejo LSD-1 – FoxO3 puede ayudar a que se exprese DIO2 en las células de CRC HT-29 promoviendo así el aumento de la T3 y consigo las funciones celulares relacionadas. Imagen realizada con BioRender, 2025.

6.3 Aumento de la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* en las células HT-29 tratadas con VPA

Una vez que se demostró que las células HT-29 expresaban los genes de las desyodasas, se prosiguió con la exposición al tratamiento de VPA a las 24, 48 y 72 h, se realizó la extracción de RNA, y la RT-qPCR con la finalidad de observar el efecto que tiene este compuesto sobre la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3*. Lo que se obtuvo fue el aumento de la expresión de ambos genes con concentraciones que iban de 0.5 - 5 mM en los tres tiempos a los que fueron expuestas las células (**Figura 13**). En el caso de las 24 h (**Figura 13A y D**), hay un aumento más notorio en la expresión de ambos genes cuando se usó las dosis de 2 mM donde se obtuvo un aumento de la expresión de 118.3 veces más con respecto al control para el gen *DIO1* (* $p < 0.05$), y de 54.1 veces por arriba del control para el gen *DIO3*. Mientras que, a una dosis de 5 mM, también se observó que la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* aumentó 20.8 y 17.3 veces más con respecto al control, respectivamente, pero no es estadísticamente significativo. Por otro lado, cuando las células fueron expuestas al VPA por 48 h (**Figura 13B y E**), podemos observar que también hay un aumento de la expresión de los dos genes y que las dosis donde se ve un mayor cambio coinciden con las presentadas a las 24 h. A una dosis de 2 mM, se obtuvo que los genes de las desyodasas tipo 1 y 3 se expresan 12.7 y 2.4 veces más con respecto al control, respectivamente; y que, a dosis de 5 mM, la expresión fue de 9.7 y 1.9 veces más elevada con respecto al control para *DIO1* y *DIO3*, respectivamente; sin embargo, ninguna muestra significancia estadística. Por último, para el caso de una exposición más prolongada del VPA sobre las células HT-29, que fue de 72 h (**Figura 13C y F**), se puede observar que las dosis en donde se presenta un mayor aumento de la expresión del gen *DIO1* es a 0.5 y 2 mM (* $p < 0.05$) con un cambio de 136 y 31.5 veces más por encima del control, respectivamente; y para el caso del gen *DIO3*, el principal cambio se observó a dosis de 0.5 mM con 47.8 veces más con respecto al control y a una dosis de 1 mM con 19.8 veces más por encima del control ($p > 0.05$).

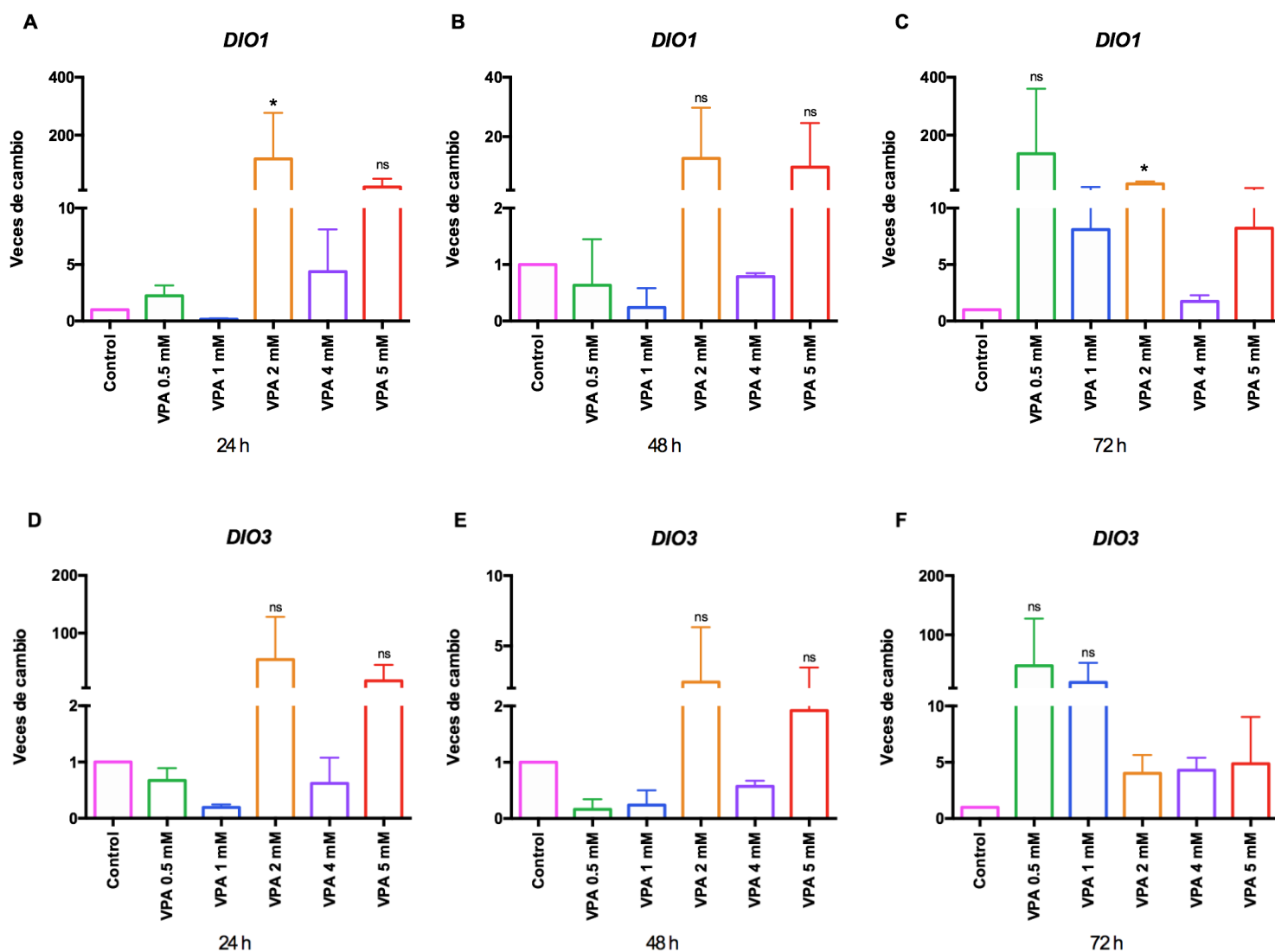


Figura 13. Cambios en la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* en las células HT-29 tratadas con VPA.

El VPA indujo la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* en la línea celular HT-29 a las 24, 48 y 72 h.

A y D. Se presenta un cambio mayor de la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* con una dosis de 2 y 5 mM con respecto al control (24 h). **B y E.** A las 48 h, las dosis donde el aumento de la expresión de ambos genes es más grande, son las mismas que las observadas a las 24 h. **C y F.** Las dosis donde se observó un mayor aumento en los genes *DIO1* y *DIO3* fue a 0.5 mM, además de 2 mM para el primer gen y 1 mM para *DIO3* (72 h). Los datos se expresan como media \pm SD, cada una de las mediciones fue realizada por triplicado. Se realizó la prueba de Kruskal Wallis con una corrección de Dunn's para comparaciones múltiples. Cada una de las dosis se comparó contra el control.

* $p < 0.05$.

Dentro de las funciones que ha mostrado tener el VPA es la de inhibir las HDAC, provocando la acetilación de histonas y la consecuente expresión de genes (Schwertheim *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2021), lo que, a su vez, le da a la célula diferentes funciones permitiendo que estas disminuyan su viabilidad, proliferación, así como crecimiento. De manera interesante, se ha observado que el incremento de la expresión de diferentes genes aumenta con el tiempo de exposición al compuesto, así como a las dosis utilizadas, sin embargo, un tiempo prolongado, podría influir de manera negativa en la expresión génica; así lo describieron Hajikazemi *et al.* (2018), quienes analizaron los niveles de expresión de los genes *KCNQ1* y *NPR-A* a diferentes tiempos (24, 48 y 72 h) en diferentes líneas celulares de CRC, observando que después de las 48 h, la expresión de estos genes va a la baja. Algo similar se puede observar en el presente estudio, donde la expresión de los dos genes aumenta a las 24 h, pero a las 48 h, a pesar de que la expresión sigue siendo más elevada con respecto al control, es menor comparada con el primer tiempo, ya que, por ejemplo, para el caso del gen *DIO1* a una concentración de 2 mM, la expresión pasa de 118.3 a 12.7, y de 54.1 a 2.4 para el gen *DIO3*; y a una concentración de 5 mM se tiene el mismo comportamiento. Sin embargo, cuando pasan 72 h, la expresión de ambos genes vuelve a elevarse, incluso los cambios de expresión en algunas dosis son más altos a los que se encontraron a las 24 h.

El comportamiento de la expresión de estos genes es inusual, en primer lugar porque se esperaba que la expresión del gen *DIO3*, que es el que se ha descrito que está relacionado con el proceso cancerígeno, disminuyera, mientras que el gen *DIO1* aumentara; tal como lo describen Rocha *et al.* (2024) quienes al utilizar la línea celular de cáncer cervicouterino HeLa tratada con 0.5 y 2 mM observaron un aumento de la proteína p21 y una disminución de la expresión del gen *p16* que se encontraba sobre expresado; sin embargo, la expresión del gen *p21* se vio disminuida al utilizar una dosis de 2 mM. Es importante considerar que el uso de un rango de dosis y tiempo de exposición de VPA más amplio puede arrojar más información que resulte valiosa para la generación de conocimientos más sólidos. En nuestro caso, no se realizó la determinación de las proteínas debido a las limitantes que se mencionaron anteriormente, sin embargo, si fuese posible tener

mediciones precisas de la expresión de estas proteínas, se esperaría que el comportamiento coincidiera con lo obtenido a partir de la RT-qPCR.

De igual manera, es importante recordar que el VPA, al ser un compuesto con capacidad de inhibir a las HDAC, promueve la acetilación de histonas, por lo que se podría pensar en llevar a cabo una determinación mediante western blot del comportamiento de las histonas, observando si se presenta o no este mecanismo epigenético y si es dependiente de las dosis y el tiempo de exposición del VPA al que están sometidas las células. Tal como lo muestran Dedoni *et al.* (2019) en su estudio donde utilizaron las células de neuroblastoma SH-SY5Y y fueron sometidas a 0.1, 0.3, 0.6, 1 y 3 mM de VPA observando un aumento de la histona H3 acetilada de manera dosis dependiente en un tiempo de 24 h, corroborando que el mecanismo por el cual actúa el VPA es a nivel molecular mediante la inhibición de las HDAC.

7. CONCLUSIÓN

En definitiva, el comportamiento de los cambios en la expresión de los genes de las desyodasas no resulta ser el más esperado, pero sí interesante debido a que los genes que mostraron un aumento en su expresión al ser tratados con VPA fueron DIO1 y DIO3, pero no DIO2.

Aunque este es un comportamiento que es posible que se presente, no es tan común, ya que se creería que conforme se aumente la concentración de VPA, así como el tiempo de exposición, la expresión de los genes fuese en aumento. Lo anterior puede ser un área de oportunidad para indagar en algún posible mecanismo que esté interfiriendo en el comportamiento de los cambios de expresión a diferentes concentraciones y tiempos de exposición de VPA y, así, poder generar nuevos conocimientos con mayor solidez que puedan ser considerados para futuros experimentos.

8. PERSPECTIVAS

El presente trabajo se centró en los cambios que pueden presentarse en la expresión génica de los genes de las desyodasas en células de CRC tras ser tratadas con un HDACI, el VPA. Los resultados indicaron un incremento en la expresión de los genes *DIO1* y *DIO3* a diferentes dosis de VPA. Con base en lo anterior, es necesario determinar la actividad de las proteínas de estos genes para observar si existe una relación entre los cambios de la expresión génica con la actividad de las proteínas. Así pues, puede ser de gran ayuda la medición de genes descritos en la bibliografía, como *p21*, con la finalidad de poder comparar y asegurar que nuestros resultados no presenten algún tipo de error.

De igual manera, puede ser beneficioso la determinación tanto de los niveles de acetilación de las histonas como de la actividad de las desacetilasas presentados en las células utilizadas tras el tratamiento con VPA, para asegurarnos del papel inhibitorio del compuesto.

Las células HT-29, al ser un modelo que presenta un CIMP, resulta importante determinar el mismo efecto en células que no cuenten con esta característica,

siendo las células SW-480 un modelo de propuesta, lo anterior debido a que esta puede ser la causa de la falta de expresión del gen *DIO2*. Además de que nos puede servir para comparar la expresión de los tres genes con la finalidad de observar si existe algún patrón que nos pueda ayudar a dilucidar lo obtenido en el presente trabajo.

REFERENCIAS

- Acuña, L. M. (2017). *Rol de la acetilación de histonas en la respuesta celular al daño en el ADN* [Doctoral]. Universidad de la República.
- Ahmed, D., Eide, P. W., Eilertsen, I. A., Danielsen, S. A., Eknæs, M., Hektoen, M., Lind, G. E., & Lothe, R. A. (2013). Epigenetic and genetic features of 24 colon cancer cell lines. *Oncogenesis*, 2(9), e71-e71. <https://doi.org/10.1038/oncsis.2013.35>
- Alzahrani, S., Al Doghaither, H., & Al-Ghafari, A. (2021). General insight into cancer: An overview of colorectal cancer (Review). *Molecular and Clinical Oncology*, 15(6), 271. <https://doi.org/10.3892/mco.2021.2433>
- Ambrosio, R., Damiano, V., Sibilio, A., De Stefano, M. A., Avvedimento, V. E., Salvatore, D., & Dentice, M. (2013). Epigenetic control of type 2 and 3 deiodinases in myogenesis: Role of Lysine-specific Demethylase enzyme and FoxO3. *Nucleic Acids Research*, 41(6), 3551-3562. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt065>
- Areses Manrique, M. C., Iglesias Rey, L., & Cubiella, J. (2016). El largo camino de la biología molecular a la práctica clínica en el cáncer colorrectal. *Gastroenterología y Hepatología*, 39(7), 429–432. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2015.11.005>
- Bianco, A. C., & Da Conceição, R. R. (2018). The Deiodinase Trio and Thyroid Hormone Signaling. En M. Plateroti & J. Samarut (Eds.), *Thyroid Hormone Nuclear Receptor* (Vol. 1801, pp. 67–83). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7902-8_8
- Bianco, A. C., & Kim, B. W. (2009). *Chapter 5—Thyroid Hormone Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4745-2.00005-5>
- Chavez, A., Quesenberry, C. P., Darbinian, J., & Asgari, M. M. (2020). Association of Valproic Acid Use, a Potent Histone Deacetylase Inhibitor, and Melanoma Risk. *Journal of Investigative Dermatology*, 140(12), 2353–2358. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.04.007>
- Chhabra, R. (2017). The Epigenetics of Noncoding RNA. *Handbook of Epigenetics*, 47–59. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-805388-1.00004-3>
- Cytion. (2025). *Línea celular HepG2—Un recurso para la investigación del cáncer de hígado*. Cytion. <https://www.cytion.com/es/Centro-de-conocimiento/Linea->

celular/Linea-celular-HepG2-Un-recurso-para-la-investigacion-del-cancer-de-higado/

- Dedoni, S., Marras, L., Olinas, M. C., Ingianni, A., & Onali, P. (2019). Downregulation of TrkB Expression and Signaling by Valproic Acid and Other Histone Deacetylase Inhibitors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 370(3), 490–503. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.258129>
- Dentice, M. (2011). Hedgehog-mediated regulation of thyroid hormone action through iodothyronine deiodinases. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 15(4), 493–504. <https://doi.org/10.1517/14728222.2011.553607>
- Ghodke-Puranik, Y., Thorn, C. F., Lamba, J. K., Leeder, J. S., Song, W., Birnbaum, A. K., Altman, R. B., & Klein, T. E. (2013). Valproic acid pathway: Pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenetics and Genomics*, 23(4), 236–241. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32835ea0b2>
- Global Cancer Observatory. (2022). Cancer Today. https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=1&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=7&group_cancer=1&include_nmsc=1&include_nmsc_other=1&half_pie=0&donut=0
- Goemann, I. M., Marczyk, V. R., Romitti, M., Wajner, S. M., & Maia, A. L. (2018). Current concepts and challenges to unravel the role of iodothyronine deiodinases in human neoplasias. *Endocrine-Related Cancer*, 25(12), R625–R645. <https://doi.org/10.1530/ERC-18-0097>
- Goemann, I. M., Romitti, M., Meyer, E. L. S., Wajner, S. M., & Maia, A. L. (2017). Role of thyroid hormones in the neoplastic process: An overview. *Endocrine-Related Cancer*, 24(11), R367–R385. <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0192>
- Guigon, C. J., & Cheng, S. (2009). Novel non-genomic signaling of thyroid hormone receptors in thyroid carcinogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 308(1–2), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.01.007>
- Guo, M., Peng, Y., Gao, A., Du, C., & Herman, J. G. (2019). Epigenetic heterogeneity in cancer. *Biomarker Research*, 7(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s40364-019-0174-y>

- Hidalgo-Álvarez, J., Salas-Lucia, F., Vera Cruz, D., Fonseca, T. L., & Bianco, A. C. (2023). Localized T3 production modifies the transcriptome and promotes the hepatocyte-like lineage in iPSC-derived hepatic organoids. *JCI Insight*, 8(23). <https://doi.org/10.1172/jci.insight.173780>
- Hull, E. E., Montgomery, M. R., & Leyva, K. J. (2016). HDAC Inhibitors as Epigenetic Regulators of the Immune System: Impacts on Cancer Therapy and Inflammatory Diseases. *BioMed Research International*, 2016, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2016/8797206>
- Jung, G., Hernández-Illán, E., Moreira, L., Balaguer, F., & Goel, A. (2020). Epigenetics of colorectal cancer: Biomarker and therapeutic potential. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(2), 111–130. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0230-y>
- Kaikkonen, M. U., Lam, M. T. Y., & Glass, C. K. (2011). Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovascular Research*, 90(3), 430–440. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvr097>
- Kalantar, H., Rashidi, M., Kalantar, M., Tavallaei, M., & Hosseini, S. M. (2021). Anticancer Effects of Valproic Acid via Regulation of Epigenetic Mechanisms in Non-small-cell Lung Cancer A549 Cell Line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 20(1). <https://doi.org/10.22037/ijpr.2019.111945.13442>
- Kim, H.-J., & Bae, S.-C. (2011). Histone deacetylase inhibitors: Molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am J Transl Res*, 3(2), 166–179.
- Köhrle, J., & Frädrich, C. (2022). Deiodinases control local cellular and systemic thyroid hormone availability. *Free Radical Biology and Medicine*, 193, 59–79. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.09.024>
- Lam De Calvo, O., & Castellero De Santos, L. (2021). Expertos en fisiología: resumen de lo que debes saber de las hormonas tiroideas. *Revista Médico Científica*, 33(2), 31–45. <https://doi.org/10.37416/rmc.v33i2.604>
- Lee, C. Y., & Grant, P. A. (2019). Role of Histone Acetylation and Acetyltransferases in Gene Regulation. En *Toxicoepigenetics* (pp. 3–30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812433-8.00001-0>
- Lee, R. S., Sad, K., Fawwal, D. V., & Spangle, J. M. (2023). Emerging Role of Epigenetic Modifiers in Breast Cancer Pathogenesis and Therapeutic Response. *Cancers*, 15(15), 4005. <https://doi.org/10.3390/cancers15154005>

- Liang, T., Wang, F., Elhassan, R. M., Cheng, Y., Tang, X., Chen, W., Fang, H., & Hou, X. (2023). Targeting histone deacetylases for cancer therapy: Trends and challenges. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 13(6), 2425–2463. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2023.02.007>
- Lipska, K., Gumieniczek, A., & Filip, A. A. (2020). Anticonvulsant valproic acid and other short-chain fatty acids as novel anticancer therapeutics: Possibilities and challenges. *Acta Pharmaceutica*, 70(3), 291–301. <https://doi.org/10.2478/acph-2020-0021>
- Liu, Y.-Y., Milanese, A., & Brent, G. A. (2020). Thyroid Hormones. En *Hormonal Signaling in Biology and Medicine* (pp. 487–506). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813814-4.00021-3>
- Luna-Palencia, G. R., Correa-Basurto, J., & Vásquez-Moctezuma, I. (2019). El ácido valproico como agente sensibilizador al tratamiento anticáncer. *Gaceta Médica de México*, 155(4), 1571. <https://doi.org/10.24875/GMM.18004749>
- Luongo, C., Dentice, M., & Salvatore, D. (2019). Deiodinases and their intricate role in thyroid hormone homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(8), 479–488. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0218-2>
- Marsili, A., Zavacki, A. M., Harney, J. W., & Larsen, P. R. (2011). Physiological role and regulation of iodothyronine deiodinases: A 2011 update. *Journal of Endocrinological Investigation*, 34(5), 395–407. <https://doi.org/10.1007/BF03347465>
- Martín-García, D., García-Aranda, M., & Redondo, M. (2024). Biomarker Identification through Proteomics in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(4), 2283. <https://doi.org/10.3390/ijms25042283>
- Matsunaga, H., Sasaki, S., Suzuki, S., Matsushita, A., Nakamura, H., Nakamura, H. M., Hirahara, N., Kuroda, G., Iwaki, H., Ohba, K., Morita, H., Oki, Y., & Suda, T. (2015). Essential Role of GATA2 in the Negative Regulation of Type 2 Deiodinase Gene by Liganded Thyroid Hormone Receptor $\beta 2$ in Thyrotroph. *PLOS ONE*, 10(11), e0142400. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142400>
- Movafagh, S., & Munson, A. (2019). Histone Deacetylase Inhibitors in Cancer Prevention and Therapy. En *Epigenetics of Cancer Prevention* (pp. 75–105). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812494-9.00004-4>
- Okugawa, Y., Grady, W. M., & Goel, A. (2015). Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers. *Gastroenterology*, 149(5), 1204-1225.e12. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.011>

- OMS. (2019). Cáncer. <https://www.who.int/health-topics/cancer>
- Paragliola, R. M., Corsello, S. M., Corsello, A., Concolino, P., Ianni, F., Papi, G., & Pontecorvi, A. (2020). Iodothyronine deiodinases and reduced sensitivity to thyroid hormones. *Frontiers in Bioscience*, 25(2), 201–228. <https://doi.org/10.2741/4803>
- Pu, J., Liu, T., Wang, X., Sharma, A., Schmidt-Wolf, I. G. H., Jiang, L., & Hou, J. (2024). Exploring the role of histone deacetylase and histone deacetylase inhibitors in the context of multiple myeloma: Mechanisms, therapeutic implications, and future perspectives. *Experimental Hematology & Oncology*, 13(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s40164-024-00507-5>
- Rahman, M., Awosika, A. O., & Nguyen, H. (2024). Valproic Acid. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559112/>
- Rocha, M., Cardoso, A., Martins, C., & Mello, M. L. (2024). Sodium valproate affects the expression of p16^{INK4a} and p21^{WAF1/Cip1} cyclin-dependent kinase inhibitors in HeLa cells. *Oncology Letters*, 28(3), 432. <https://doi.org/10.3892/ol.2024.14563>
- Rostkowska, O., Olejniczak-Kęder, A., Spsychalski, P., Szaryńska, M., & Kobiela, J. (2022). Triiodothyronine lowers the potential of colorectal cancer stem cells in vitro. *Oncology Reports*, 49(1), 21. <https://doi.org/10.3892/or.2022.8458>
- Sabatino, L., Vassalle, C., Del Seppia, C., & Iervasi, G. (2021). Deiodinases and the Three Types of Thyroid Hormone Deiodination Reactions. *Endocrinology and Metabolism*, 36(5), 952–964. <https://doi.org/10.3803/EnM.2021.1198>
- Schwertheim, S., Worm, K., Schmid, K., & Sheu-Grabellus, S.-Y. (2014). Valproic Acid Downregulates NF-κB p50 Activity and IRAK-1 in a Progressive Thyroid Carcinoma Cell Line. *Hormone and Metabolic Research*, 46(03), 181–186. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1367043>
- Shanmugam, G., Rakshit, S., & Sarkar, K. (2022). HDAC inhibitors: Targets for tumor therapy, immune modulation and lung diseases. *Translational Oncology*, 16, 101312. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2021.101312>
- Singh, G., Bell, G. S., Driever, P. H., & Sander, J. W. (2012). Cancer risk in people with epilepsy using valproate-sodium: Cancer risk associated with valproate use. *Acta Neurologica Scandinavica*, 125(4), 234-240. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2011.01607.x>
- Singh, D., Gupta, S., Verma, I., Morsy, M. A., Nair, A. B., & Ahmed, A.-S. F. (2021). Hidden pharmacological activities of valproic acid: A new insight. *Biomedicine*

- Strey, C. W., Schamell, L., Oppermann, E., Haferkamp, A., Bechstein, W. O., & Blaheta, R. A. (2011). Valproate inhibits colon cancer growth through cell cycle modification in vivo and in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2(2), 301–307. <https://doi.org/10.3892/etm.2011.202>
- Sun, J., Piao, J., Li, N., Yang, Y., Kim, K., & Lin, Z. (2020). Valproic acid targets HDAC1/2 and HDAC1/PTEN/Akt signalling to inhibit cell proliferation via the induction of autophagy in gastric cancer. *The FEBS Journal*, 287(10), 2118–2133. <https://doi.org/10.1111/febs.15122>
- Tecalco-Cruz, A. C., Macías-Silva, M., Ramírez-Jarquín, J. O., Ríos-López, D. G., & Zepeda-Cervantes, J. (2021). Mecanismos básicos en la modulación de la expresión génica: Algunas implicaciones en el envejecimiento del cerebro. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.0.295>
- Thelen, P., Schwyer, S., Hemmerlein, B., Wuttke, W., Seseke, F., & Ringert, R.-H. (2004). Expressional changes after histone deacetylase inhibition by valproic acid in LNCaP human prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*. <https://doi.org/10.3892/ijo.24.1.25>
- Tollefsbol, T. O. (2017). An Overview of Epigenetics. *Handbook of Epigenetics*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805388-1.00001-8>
- Vanzan, L., Sklias, A., Herceg, Z., & Murr, R. (2017). Mechanisms of Histone Modifications. *Handbook of Epigenetics*, 25–46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805388-1.00003-1>
- Xia, C., Tao, Y., Li, M., Che, T., & Qu, J. (2020). Protein acetylation and deacetylation: An important regulatory modification in gene transcription (Review). *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, 2923–2940. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9073>
- Xia, Q., Sung, J., Chowdhury, W., Chen, C., Höti, N., Shabbeer, S., Carducci, M., & Rodriguez, R. (2006). Chronic Administration of Valproic Acid Inhibits Prostate Cancer Cell Growth “In vitro” and “In vivo”. *Cancer Research*, 66(14), 7237–7244. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-0487>
- Xie, Z., Zhou, Z., Yang, S., Zhang, S., & Shao, B. (2023). Epigenetic regulation and therapeutic targets in the tumor microenvironment. *Molecular Biomedicine*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s43556-023-00126-2>

- Yang, G., Yu, X. (Richard), Weisenberger, D. J., Lu, T., & Liang, G. (2023). A Multi-Omics Overview of Colorectal Cancer to Address Mechanisms of Disease, Metastasis, Patient Disparities and Outcomes. *Cancers*, 15(11), 2934. <https://doi.org/10.3390/cancers15112934>
- You, H., Li, Q., Kong, D., Liu, X., Kong, F., Zheng, K., & Tang, R. (2022). The interaction of canonical Wnt/ β -catenin signaling with protein lysine acetylation. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 27(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s11658-021-00305-5>
- Zhu, M.-M., Li, H.-L., Shi, L.-H., Chen, X.-P., Luo, J., & Zhang, Z.-L. (2017). The pharmacogenomics of valproic acid. *Journal of Human Genetics*, 62(12), 1009–1014. <https://doi.org/10.1038/jhg.2017.91>