

Actividad antitumoral de la curcumina asociada a la regulación de mecanismos epigenéticos: implicaciones en la vía Wnt/-catenina

Antitumor activity of curcumin associated with regulation of epigenetic mechanisms: implications for the Wnt/-catenin pathway

Andrés Hernán Cardona Echeverry,^I Diego Fernando Uribe Yunda,^{I,II} Fabian Mauricio Cortés-Mancera^I

^IInstituto Tecnológico Metropolitano (ITM), Medellín-Colombia.

^{II}Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

RESUMEN

Introducción: la curcumina es el principal compuesto polifenólico bioactivo de la planta *Curcuma longa*. Esta molécula ha mostrado efectos antioxidantes, anti-inflamatorios y anticancerígenos en diferentes modelos experimentales. Como parte de su actividad benéfica en células tumorales, se le ha asociado con la regulación de mecanismos epigenéticos, modulando así diferentes vías de señalización, entre ellas la vía Wnt/ β -catenina, la cual juega un papel fundamental en el desarrollo de cáncer.

Objetivos: describir los avances científicos en el estudio de la actividad anticancerígena de la curcumina en relación a la modulación de mecanismos epigenéticos y su implicación en la vía Wnt/ β -catenina.

Métodos: se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos *PubMed*, *Google Scholar*, *Scopus* y *ScienceDirect*, utilizando los siguientes criterios de búsqueda: "curcumina", "epigenética", "Wnt/ β -catenina" y "cáncer". Se incluyeron artículos con importancia científica entre los años 2001-2016, que exploraran la actividad inhibitoria de la curcumina sobre la maquinaria epigenética y/o que evidenciaran un efecto regulador sobre alteraciones en la vía Wnt/ β -catenina.

Resultados: se encontró en la literatura una creciente evidencia que involucra a la curcumina con la inhibición de la actividad de enzimas ADN metiltransferasas, acetiltransferasas y desacetilasas de histonas, y por ende en la regulación de alteraciones epigenéticas. Esto lleva a la re-expresión de genes silenciados en

diversos tipos de cáncer, lo cual le confiere una actividad antitumoral asociada a la regulación de vías de señalización. En este contexto, se ha demostrado que la curcumina actúa sobre componentes de la vía Wnt/ β -catenina e incluso regula su actividad mediante la desmetilación de antagonistas de Wnt.

Conclusiones: este manuscrito discute los potenciales efectos quimiopreventivos de la curcumina asociados con restauración de los mecanismos epigenéticos y la vía de señalización Wnt/ β -catenina.

Palabras clave: *Curcuma longa*; Curcumina; epigenética; cáncer; Wnt/-catenina.

ABSTRACT

Introduction: Curcumin is the main bioactive polyphenolic compound in the plant *Curcuma longa*. This molecule has displayed antioxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activity in various experimental models. Its beneficial effect on tumor cells has been associated with the regulation of epigenetic mechanisms, modulating various signaling pathways, among them the Wnt/-catenin pathway, which plays a fundamental role in cancer development.

Objectives: Describe the scientific progress achieved in the study of the anti-cancer activity of curcumin in relation to the modulation of epigenetic mechanisms and its implication for the Wnt/?-catenin pathway.

Methods: A systematic search was conducted in the databases PubMed, Google Scholar, Scopus and ScienceDirect, using the search terms 'curcumin', 'epigenetics', 'Wnt/?-catenin' and 'cancer'. Papers were included which had scientific relevance, had been published between 2001 and 2016, explored the inhibitory activity of curcumin on the epigenetic machinery and/or presented evidence of a regulatory effect on alterations in the Wnt/?-catenin pathway.

Results: Growing evidence was found in the literature associating curcumin with inhibition of the activity of the enzymes histone deacetylases, acetyltransferases and DNA methyltransferases, and therefore regulation of epigenetic alterations. This leads to re-expression of silenced genes in various cancer types, granting it antitumor activity associated with the regulation of signaling pathways. In this context, it has been proved that curcumin acts upon components of the Wnt/?-catenin pathway and even regulates their activity through demethylation of Wnt antagonists.

Conclusions: The paper discusses the potential chemopreventive effects of curcumin associated with restoration of epigenetic mechanisms and the Wnt/-catenin signaling pathway.

Keywords: *Curcuma longa*; Curcumin; epigenetics; cancer; Wnt/-catenin.

INTRODUCCIÓN

La *Curcuma longa* es una planta perenne de la familia de las *Zingiberaceae*,¹ cultivada principalmente en el suroeste de Asia; a esta familia también pertenecen *Curcuma parviflora* Wall, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, *Curcuma zedoaria* Rosc, *Curcuma alismatifolia* Gagnep, *Zingiber officinale*, entre muchas más. Sus raíces han sido ampliamente utilizadas en la medicina China e India.² Del rizoma de la planta se

deriva la cúrcuma (del inglés "*turmeric*") que es la especia completa, compuesta por una gran variedad de fitoquímicos, entre ellos: curcuminoides (curcumina, demetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina), *zingiberene*, *curcumene*, *curcumol*, *oils*, *calebin A*, β -*elemene*, *turmerones* y *cyclocurcumin*.^{2,3}

En el caso de la *Curcuma longa* su consumo ha sido relacionado como remedio para diversas enfermedades como diabetes, problemas estomacales, reumatológicos, problemas hepáticos e incluso como analgésico.² A los componentes de la *Curcuma longa* también se le atribuyen actividades biológicas en contra de inflamaciones, heridas, abscesos, dermatosis, conjuntivitis, disentería, amenorrea e incluso gonorrea y hepatitis.⁴ Particularmente en la medicina tradicional india es usada como tónico estomacal y como una planta con capacidades de purificar el tejido sanguíneo, también es empleada para manejar enfermedades de hígado, piel y cicatrización de heridas.⁵ En Tailandia es una planta usada para enfermedades relacionadas a la dermis, externamente es aplicada para tratar picaduras de insectos, hemorragias y problemas dentales. También se usa para manejar úlceras peptídicas y como antibacterial.⁵

En Latinoamérica se aprovecha la planta para tratar heridas, contusiones, cólicos, inflamaciones en las mucosas y congestiones, bronquitis, así como la viruela y la gonorrea.⁴ Para aplicar externamente y oralmente esta planta, sus raíces secas son cocidas en agua caliente, en la mayoría de los casos.

Por otro lado la especia de la planta (cúrcuma) es usada como cosmético en india, además de ser en algunas culturas usada en ritos religiosos y sociales.² Igualmente en las industrias farmacéuticas, de confitería y alimenticias es utilizada como colorante. En los hogares el rizoma de la planta se usa como especia en la preparación de alimentos, debido que su cultivo es común en todo el territorio asiático.² En Indonesia se utilizan hojas frescas de la planta como saborizante natural.⁵ Los usos culinarios de la cúrcuma varían mucho dependiendo de la región en la cual sea utilizada la planta, en India por ejemplo, es adicionada a sopas de lentejas y platos que contengan carne, también es añadida a mezclas de mostaza y condimentos, incluso se utiliza en remplazo del azafrán para proporcionar color y sabor a las comidas. La cúrcuma es uno de los ingredientes principales del polvo de curry, el cual es comercializado a nivel global, en América Latina el curry es usado en gran medida para la condimentación de carnes. Así mismo, las industrias alimenticias usan la cúrcuma como colorante (exhibe un color amarillo) de los productos que comercializan.^{2,5}

Actualmente existen productos comerciales a base del rizoma de la planta, los cuales son accesibles a cualquier persona y son de uso común en las preparaciones alimenticias de la población en general. Debido a los efectos medicinales atribuidos popularmente a la planta, y a los descubrimientos de los componentes de la *Curcuma longa* que pueden estar relacionados a sus actividades quimiopreventivas, es necesario entender en mayor medida los mecanismos moleculares que están involucrados en estos efectos medicinales. Resultados preliminares de un estudio que está siendo realizado por nuestro grupo, en el cual se utiliza un extracto de la especia completa, muestran como esta planta puede tener efectos anti-proliferativos y pro-apoptóticos en líneas de cáncer de hígado (Cardona A y cols.; datos no publicados).

El compuesto más estudiado del rizoma de la planta es el polifenol curcumina, ya que sus propiedades químicas se asocian a efectos antiinflamatorios y antioxidantes a través de la modulación de diferentes componentes celulares. Adicionalmente, la curcumina y algunos análogos presentan efectos anticancerígenos relacionados a múltiples blancos terapéuticos. Sus propiedades quimiopreventivas se han asociado a la inhibición específica de componentes de vías de señalización importantes en el

proceso de carcinogénesis. Entre los blancos moleculares que pueden ser modulados por este polifenol se encuentran factores transcripcionales, citoquinas, factores de crecimiento, quinasas y diferentes enzimas.⁶ A nivel estructural, este polifenol posee la particularidad de interactuar con proteínas implicadas en la regulación epigenética, afectando su actividad y en algunos casos su expresión. Estas proteínas tienen un papel importante en el proceso de carcinogénesis, aquellas son responsables de las modificaciones anormales en el ADN, como la hipermetilación de sitios puntuales del ADN. Cuando las anomalías se producen en secuencias promotoras relacionadas con genes que regulan la homeostasis celular, pueden conllevar a su silenciamiento génico, suceso que repercute en el control de la proliferación.

Las modificaciones epigenéticas anormales en el ADN y su prevalencia en las diferentes vías de transducción de señales que controlan la división celular han sido asociadas al proceso de carcinogénesis. Una de las vías de señalización frecuentemente alterada en cáncer y que presenta alteraciones epigenéticas en sus componentes de regulación, es la vía Wnt/ β -catenina. Es por esto que la descripción de los mecanismos epigenéticos involucrados en la actividad anticancerígena de la curcumina y su efecto en la regulación de la vía, permitirían entender efectos quimiopreventivos asociados a la curcumina.

Curcumina

La curcumina fue aislada inicialmente por Vogel y Pelletier en 1818, y posteriormente fue obtenida en forma cristalina por Daube en 1870; químicamente es conocida como *diferuloylmethane* (1910), y según el sistema IUPAC como 1,7-bis(4-hidroxy-3-metoxifenil)-1,6-heptadiene-3,5-dione-(1E,6E).^{6,7} La curcumina tiene un peso molecular de 368.37 g/mol, punto de fusión a 183 °C y su fórmula molecular es C₂₁H₂₀O₆. Es un compuesto insoluble en agua a pH ácido o neutro, a su vez puede ser disuelta en dimetilsulfóxido (> 11 mg/mL), etanol, ácido acético, metanol, cloroformo y otros aceites. Presenta una máxima longitud de onda de absorción en el rango de 420 a 430 nm.^{6,7} Existen dos formas estructurales de la curcumina; la enol ([fig. 1A](#)) y la estructura *keto* ([fig. 1B](#)), esta última es encontrada en estado sólido. La forma enol posee un puente de hidrogeno intramolecular que ha sido asociado a una mayor actividad antioxidante.⁷

Los curcuminoides presentes en la planta *Curcuma longa* se representan en la figura 1, estos son responsables de la pigmentación amarilla que presenta la especia. Se ha descrito que la curcumina está presente en un rango de 2 a 5 % dentro de la cúrcuma.⁶ Así mismo se considera a la curcumina como el compuesto más bioactivo de su grupo,^{1,2} junto con la bisdemetoxicurcumina ([fig. 1C](#)),^{2,8} sin embargo, podría afirmarse que los curcuminoides en conjunto exhiben una mayor actividad biológica.² La curcumina es un compuesto que ha sido descrito como un agente antioxidante,^{9,10} antiinflamatorio^{1,11} y anticarcinogénico.^{1,2,12} La presencia en la estructura química de grupos hidroxilos del anillo fenólico es responsable de la actividad antioxidante de este compuesto.^{7,13} Por otro lado, la aparición de uniones dobles y grupos *keto*, proporcionan a la curcumina su actividad biológica en procesos antiinflamatorios y anticancerígenos.⁷

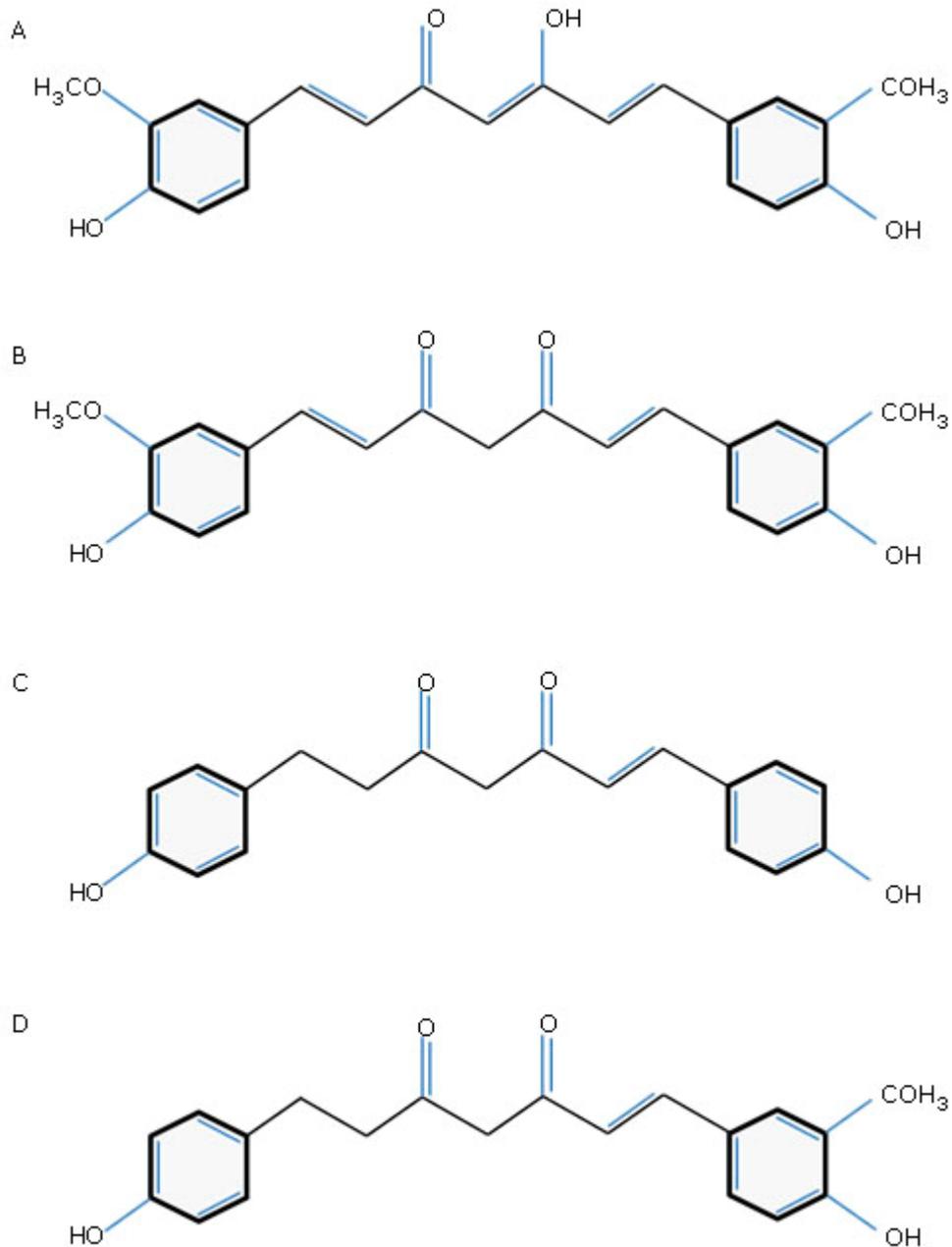


Fig. 1. Estructura de los principales polifenoles (curcuminoides) de la planta *Curcuma longa*. (A) Estructura enol de la curcumina. (B) Forma keto de la curcumina. (C) Bisdemetoxicurcumina. (D) Demetoxicurcumina.

Diferentes vías de señalización y sus componentes han sido postulados como blancos terapéuticos, en los cuales la curcumina puede tener un efecto biológico de regulación positiva o negativa. Uno de estos blancos es el complejo proteico NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), importante en la respuesta anti-inflamatoria. Se ha descrito que este polifenol puede inhibir la fosforilación de I κ B α por la proteína IKK, esto genera la detención de la activación constitutiva e inducible de NF- κ B y su translocación a núcleo.^{11,12,14} Este evento genera a su vez la regulación negativa de los genes blanco de la vía NF- κ B, entre ellos: ciclina D1,

ciclooxigenasa-2 (COX-2), Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1L, Mcl-1S.¹⁴ Por otro lado, el efecto antioxidante¹⁵ de la curcumina también se ha relacionado a la inducción de algunas enzimas fase 2, dentro de las cuales están glutatión S-transferasa (GTS)¹⁶ UDP-glucuronosiltransferasa y hemo oxigenasa- 1 (HO-1).¹⁷ Adicionalmente se ha observado que puede aumentar la expresión del factor de transcripción Nrf2 (*NF-E2-related factor 2*), relacionado con la regulación de la expresión de enzimas detoxificantes y antioxidantes.^{18,19}

En diferentes modelos *in vitro* la curcumina también puede inhibir la fosforilación de proteínas de gran importancia biológica. En células de cáncer de colon (línea celular PC-3), el tratamiento con curcumina se ha relacionado con disminución en la fosforilación de Akt, mTOR, GSK3 β , FoxO1 y otras proteínas.²⁰ En líneas celulares de cáncer de mama se describe como algunas proteínas intracelulares involucradas en la vía de señalización Wnt/ β -catenina, pueden ser reguladas mediante el tratamiento con Curcumina.²¹ Esta vía que está relacionada con la proliferación, adhesión y diferenciación celular se ha visto desregulada contribuyendo a la carcinogénesis. Incluso diferentes estudios muestran como la curcumina podría regular negativamente tanto los niveles citoplasmáticos y/o nucleares de la proteína β -catenina en diferentes líneas celulares.²¹⁻²³

Regulación de mecanismos epigenéticos mediada por curcumina

Generalidades

La epigenética se refiere a cambios heredables en el patrón de expresión génica, que no son consecuencia de mutaciones en la secuencia nucleotídica del material genético.²⁴ Estos cambios están dados por diferentes mecanismos, de los cuales los más importantes son la metilación del ADN en las sitios CpG (dinucleótidos citosina/guanina) (fig. 2A) y la modificación postraduccional de proteínas histonas²⁴ (fig. 2B) que conlleva a la modificación de la cromatina. Estas modificaciones epigenéticas contribuyen directamente a la regulación del ADN, principalmente la expresión o silenciamiento de genes.

Se han descrito varios eventos por los cuales la hipermetilación en islas CpG presentes dentro de promotores de genes, contribuye con el silenciamiento transcripcional²⁴⁻²⁶ (fig. 2A). El primero se basa en el cambio estructural que se presenta en las citosinas metiladas. Debido que los grupos metilo (CH₃) quedan proyectados en el surco mayor del ADN, pueden bloquear factores de la transcripción, impidiendo el reconocimiento de la secuencia blanco. Un segundo mecanismo es mediado por metilación tiene que ver con las proteínas de unión a ADN metilado (MBPs). Estas moléculas interactúan con el ADN metilado sirviendo como un co-represor y repercutiendo directamente en el silenciamiento génico. En otro contexto, cuando se presentan abundantes sitios CpG en el cuerpo del gen, la metilación aquellos nucleótidos podría llevar al silenciamiento del gen al bloquear la transcripción,²⁵ sin embargo, la metilación intragénica se ha asociado con el aumento de la expresión génica.^{27,28} Un último mecanismo surge a partir de la interacción entre la metilación del ADN con la modificación de las histonas, Las enzimas encargadas de metilar el ADN así como las proteínas MBPs, tienen la capacidad de reclutar maquinaria encargada de la modificación de la cromatina^{24,25} (fig. 2A). En general la acetilación de histonas (mediada por desacetilasas de histonas) se asocia con compactamiento de la cromatina y silenciamiento génico.²⁵

Metilación del ADN y curcumina

La metilación del ADN es catalizada por las enzimas ADN metiltransferasas (DNMTs), las cuales unen covalentemente grupos CH₃ al carbono 5' de las citosinas a partir del intermediario S-adenosilmetionina.²⁵ Las ADN metiltransferasas se clasifican en dos grupos generales basados en su afinidad por el sustrato de ADN. Las metiltransferasas *de novo*, DNMT3a y DNMT3b, son responsables de metilar las citosinas presentes en islas CpG no metiladas y las metiltransferasas de mantenimiento, DNMT1 y DNMT2, mantienen el patrón de metilación presente en el ADN. La DNMT1 es la encargada de metilar el ADN durante el proceso de replicación celular; si existe metilación sobre una cadena de ADN que es replicada, estas enzimas se encargan de transferir grupos metilo a las mismas bases en la nueva cadena. En el caso de la DNMT2, esta se ha relacionado con un menor efecto en el mantenimiento de las marcas de metilación. Por último, se encuentra otro tipo de enzima, la DNMT3L, una proteína que no posee actividad intrínseca sobre el ADN, sin embargo se asocia a la modulación de la actividad catalítica de la DNMT3a y DNMT3b.^{24,25} Este conjunto proteico representa el sistema de metilación del ADN en mamíferos.^{24,25}

Este sistema de metilación cumple la función de preservar el patrón de metilación del ADN, el cual es importante para mantener la impronta genómica, la expresión tejido-específico de genes, para la regulación de oncogenes y durante el desarrollo embrionario. En líneas celulares derivadas de diferentes neoplasias se han descrito anomalías en el patrón de metilación del ADN. En estas células neoplásicas el patrón de metilación se invierte, al compararlo con el patrón observado en células no tumorales.^{24,25} Específicamente en células cancerígenas se presentan regiones puntuales del genoma hipermetiladas, principalmente en donde se encuentran promotores de genes que regulan la división celular, mientras que otras regiones (principalmente no codificantes) quedan hipometiladas, lo cual ha sido asociado a inestabilidad cromosómica.

Existen diferentes drogas y moléculas capaces de regular las enzimas involucradas en mecanismos epigenéticos, por ejemplo, la 5-aza-2'-deoxicitidina y la Tricostatina A, son inhibidores de DNMTs y desacetilasas de histonas (HDACs) que interactúan con dichas enzimas disminuyendo la metilación del ADN y en la desacetilación de histonas, respectivamente. Las proteínas DNMTs pueden ser reguladas por la curcumina, de hecho, se ha descrito que esta molécula tiene un efecto inhibitorio sobre las enzimas que catalizan la metilación del ADN.^{29,30} En estudios *in vitro* con análogos de DNMT1 (*M.SssI*) e *in silico* mediante *docking* molecular, se ha demostrado que la interacción que la curcumina realiza con las DNMTs puede conllevar a la inhibición de su actividad enzimática; mediante el bloqueo del grupo tiol catalítico (átomo de azufre e hidrogeno, -SH) de la cisteína 1226 (C1226) presente en esta proteína. Los fitoquímicos curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina son compuestos con estructuras bis- α,β -cetona insaturada, en las cuales el átomo carbono α pueden superponerse con el átomo de carbono C6 del anillo de la citosina en el espacio catalítico; resultando en una unión covalente del carbono α con el átomo S (del grupo tiol) de la cisteína catalítica de la DNMT, a distancias que varían desde 4,5, 4,4 y 4,3 Å para curcumina (-14,26 kcal/mol), demetoxicurcumina (-12,89 kcal/mol) y bisdemetoxicurcumina (-11,86 kcal/mol) respectivamente.³¹ En estudios experimentales también se ha observado que después de tratamientos con curcumina los niveles de expresión de las DNMTs disminuyen.³²

El hecho de que la curcumina pueda modular DNMT1 implica que su efecto sobre la metilación es a nivel global. Esta característica le permite igual que a otros compuestos naturales, poder incrementar la sensibilidad de células tumorales a las drogas o agentes convencionales, potenciando su efecto anti-proliferativo.³³ Inclusive se ha descrito como un agente regulador de la metilación en cáncer de colon.³⁴ Y

puede regular la expresión de DNMT1 en células leucémicas al disminuir la unión de los factores de transcripción que potencian la expresión de esta enzima.³⁵ Todos estos factores contribuyen a su efecto sobre la metilación del ADN.

Otro mecanismo epigenético regulado por la curcumina es la producción de pequeños ARNs no codificantes o micro ARNs (miRNA), los cuales pueden aumentar o disminuirla expresión de un gen. Muchos reportes muestran que células tratadas con curcumina responden sobre-expresando y regulando negativamente diferentes miRNA.^{33,36,37} Entre estos ARNs, se ha observado que la curcumina aumenta la expresión de, miRNA-16, miRNA-143, miRNA-34³⁶ y miRNA-22,³³ dentro de los más destacados; por ejemplo, el miRNA-34 es un importante regulador del ciclo celular, que contribuye en la inhibición de la invasión y la migración. También se ha reportado que este polifenol regula positivamente los miRNA-15 y 16, lo cual resulta en la inducción de apoptosis en células cáncer de mama.³⁷ Por otro lado la curcumina también disminuye ciertos miRNAs como el miRNA-199a o miRNA-21, las implicaciones biológicas de esta disminución no son muy claras aún,^{33,36} sin embargo en cada tipo de células los miRNAs que son regulados por curcumina pueden variar.³⁶

Desacetilación de histonas y curcumina

En cuanto a la modificación de las histonas y la remodelación de la cromatina, los cambios más relevantes obedecen a la metilación y a la acetilación (CH₃-CH₂) mediada por enzimas tipo transferasas; en este proceso las histonas H2A, H2B, H3 y H4 pueden sufrir estos tipos de modificaciones y un gran número de modificaciones químicas adicionales.^{38,39} La acetilación de lisinas u otros residuos en histonas se asocia con la activación de la transcripción, mientras que la desacetilación es asociada al compactamiento de la cromatina y por ende con silenciamiento de genes (fig. 2B). En contraste, la metilación de residuos es asociada con la represión de genes dependiendo de la histona o la cantidad de metilaciones, por ejemplo, la tri-metilación de la lisina 9 en la histona H3 (H3K9me₃) o la H3K27me₃ son asociadas con la compactación de la cromatina y el silenciamiento génico, mientras que la H3K4me₃ se ha observado que favorece expresión de genes.^{24,25,38}

Los inhibidores de HDACs son agentes que reducen efectivamente la desacetilación de histonas, estos han sido usados ampliamente en modelos en los que se busca re-expresar genes silenciados anormalmente por mecanismos epigenéticos, sin embargo, son moléculas con una alta citotoxicidad dependiente de dosis y asociada al modelo usado. En este contexto, los compuestos naturales se han convertido en alternativas a los inhibidores comunes de DNMTs o HDACs. Particularmente la curcumina se ha descrito como un agente que reduce la acetilación de las histonas mediante la inhibición de la HAT (histonas acetiltransferasas), como la familia de proteínas p300/CBP.^{40,41} Se ha evidenciado que la curcumina reduce la acetilación global de las histonas, particularmente en las histonas H3 y H4 importantes en la modulación de la expresión génica.⁴²⁻⁴⁵ También se ha descrito que la curcumina así como otros compuestos naturales con estructuras similares a concentraciones entre 50 y 500 µM, pueden inhibir específicamente las desacetilasas de histonas (HDACs) tanto a nivel de actividad como de expresión.^{41,46} Shu y cols., demostraron como la curcumina podría inhibir la actividad total de las HDACs en células de cáncer de próstata (LNCaP). De igual forma se evidencio que el porcentaje de H3K27me₃ (modificación que promueve la represión de la transcripción) en esta línea celular disminuyo por el efecto del tratamiento con la Curcumina.³² El efecto de la curcumina sobre estas enzimas que modifican el ADN y las histonas podría depender no solo de la concentración de este compuesto natural, también es importante tener en cuenta el modelo celular utilizado.

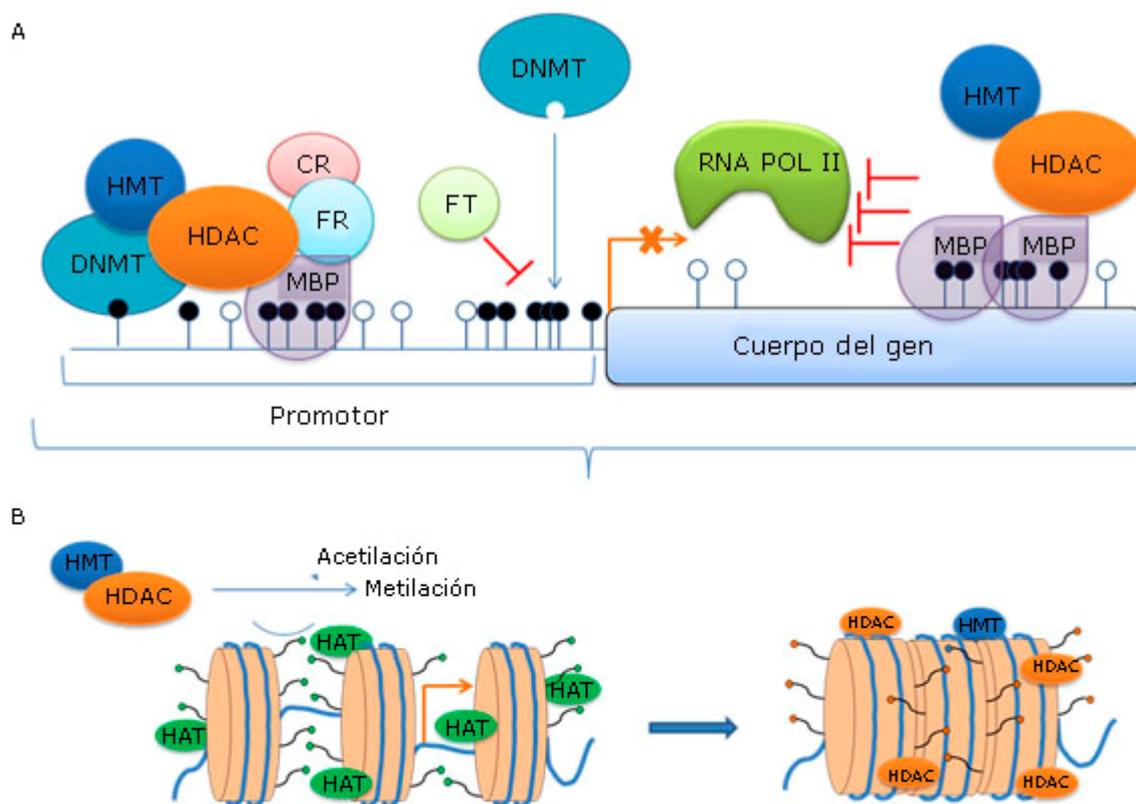


Fig. 2. Mecanismos epigenéticos involucrados en la regulación de la expresión génica. En la figura se muestran los mecanismos de silenciamiento de la expresión génica (X) mediados por modificaciones epigenéticas. Los círculos negros indican los sitios CpG metilados y los círculos vacíos los sitios CpG no metilados. (A) La metilación mediada por la ADN metiltransferasa (DNMT) adiciona un grupo metilo al carbono 5' de las citosinas. Esta modificación puede interferir con la unión de factores de trascrición (FT). Las proteínas de unión a ADN metilado (MBP) tiene la capacidad de servir como represores de la transcripción. Además, pueden reclutar desacetilasas de histonas (HDAC), metiltransferasas de histonas (HMT) e incluso factores de represión (FR) y correpresores transcripcionales (CR). A nivel intragénico las MBPs pueden interferir con la actividad de la ARN polimerasa II (RNA Pol II). (B) Las HMTs y HDACs causan la compactación de la cromatina favoreciendo aún más el silenciamiento génico. HAT: Acetiltransferasas de histonas.

En modelos de *docking* molecular se ha observado que la curcumina encaja en el sitio activo de la desacetilasa de histona HDAC8, formando contactos con los residuos Arg37, Pro35, Ile34 y Phe152 del bolsillo catalítico; además esta molécula forma dos puentes de hidrogeno, el primero entre el grupo carboxilo de la Asp29 y el grupo hidroxilo de la curcumina (2,46Å). El segundo se da entre el grupo carboxilo de la Tyr100 y el oxígeno del grupo fenólico de la curcumina (1,80Å), la energía de unión (afinidad) entre este compuesto y la HDAC fue de -8,55 kcal/mol en este estudio.⁴⁶ Esta energía representa la fuerza que se genera en la unión entre el ligando y la proteína. A nivel general se conoce que la curcumina puede inhibir la actividad de las HDACs 1,3,8,^{33,36} así como la HDAC4.³⁶

Muchas evidencias sugieren que la curcumina puede inhibir la actividad de HDACs a nivel de expresión y actividad catalítica. Lee y cols. reportaron que la curcumina induce apoptosis y arresto del ciclo celular en fase G2/M en células tumorales, en parte por la reducción en la expresión de HDAC4 y la inhibición de su actividad.⁴⁷ Otro trabajo sugiere que la curcumina inhibe la reparación del ADN (mediada por *Double-Strand Breaks DBS repair*), debido a su efecto inhibitorio sobre las HDACs y otros efectos reportados por Wang y cols.⁴⁸ Este efecto resulta benéfico en cáncer, debido a que la quimioterapia y radioterapia causan daño al DNA, es este contexto, evitar la activación de vías de reparación de ADN en células cancerígenas contribuiría con un efecto terapéutico.⁴⁸

Existen múltiples efectos anticancerígenos asociados a la curcumina dada su actividad en contra de HDACs, este efecto también es potenciado en parte a su dualidad como inhibidor de acetiltransferasas de histonas (HAT).^{40,41} Por otro lado, su actividad inhibitoria de HATs puede diferir respecto a lo observado sobre HDACs y causar diferentes efectos en otros modelos y también puede ser asociada con efectos adversos durante el desarrollo.^{49,50}

En general, muchos de los efectos anticancerígenos de la curcumina están relacionados con la modulación simultánea de varios mecanismos epigenéticos, estudios sugieren la regulación negativa o la inhibición de DNMTs y HDACs de manera conjunta por este polifenol.^{32,51} Inclusive la curcumina puede tener un efecto sinérgico con inhibidores de HDACs, en la regulación de vías de señalización. En un estudio reciente la administración de inhibidores de HDACs en combinación con curcumina, potencia el efecto del compuesto natural. Es este mismo trabajo se describe que la curcumina podría inhibir HDACs mediante un mecanismo relacionada con la inhibición de la vía NF- κ B en "*cancer stem cells*".⁵² También se ha reportado un efecto sinérgico en leucemia, el cual involucra la modulación de proteínas de choque térmico mediante y HDAC6, que conjuntamente promueven la oncogénesis en relación con la inducción de estrés oxidativo.⁵³

Un estudio más reciente, confirma la capacidad de inhibitoria de la curcumina sobre HDACs. Omotuyi y cols. reportaron que la curcumina afecta con el funcionamiento del bolsillo de unión ϵ -N-acetyl-lysine de las HDAC1, interfiriendo con su sistema de funcionamiento (*charge relay system*). En adición, la curcumina se une al bolsillo catalítico e induce el compactamiento del bolsillo.⁵⁴ Tomadas en conjunto, estas evidencias soportan la actividad antitumoral de la curcumina en relación con su capacidad de modular DNMTs y HDACs.

Desregulación epigenética en cáncer

Los cambios anormales en los patrones de metilación del ADN conllevan a modificaciones en las histonas, y estos dos mecanismos pueden generar una progresión hacia cáncer relacionada con el silenciamiento de genes supresores tumorales, activadores de apoptosis, genes responsables de la reparación e involucrados en la inhibición por contacto del crecimiento celular, entre otros.^{24,25} En cáncer de pulmón, vejiga, colón, gástrico y células leucémicas, se ha descrito un aumento en los niveles de las DNMTs, lo que supone una actividad de metilación incrementada en estas neoplasias.²⁴

El problema radica en que el patrón de metilación o epigenoma determina que genes son expresados en los distintos tejidos del cuerpo. Luego de su traducción a proteínas regulan actividades vitales dentro del mantenimiento del homeostasis celular. Estos procesos biológicos pueden afectarse debido al cambio en el patrón de metilación observado en células tumorales, debido a las alteraciones en los mecanismos

epigenéticos. Mediante modelos *in vitro* se ha determinado que la hipermetilación de promotores y el cambio en la organización de la cromatina conllevan a la modificación del patrón de expresión génica, este suceso está ligado al proceso de carcinogénesis.⁵⁵ Por ejemplo, en cáncer colorrectal se encuentran genes silenciados que regulan ciclo celular como Rb (retinoblastoma) y p14/ARF (*alternative reading frame*). En leucemia, p15/CDKN2B (inhibidor 2B de quinasa dependiente de ciclina). A su vez, p16/CDKN2A (inhibidor 2A de quinasa dependiente de ciclina) en varios cánceres.

Genes supresores tumorales como VHL (supresor tumoral *vonHippel-Lindau*) también se han descrito silenciados por mecanismos epigenéticos en células renales cancerígenas. En cáncer de mama y ovario es frecuente encontrar no expresados genes reparadores de ADN como BRCA1 (*breast cancer 1, early onset*). En cáncer de hígado es común que genes que controlan la adhesión celular como *E-cadherin*, *H-cadherin* y *M-cadherin* no se expresen activamente. Y que genes apoptóticos como SEMA3B (*seraphorin 3B*) y RASSF1A se encuentren silenciados en carcinoma de hígado y de células renales o pulmonares, respectivamente. En contraste, muchos otros genes con propiedades oncogénicas se encuentran hipometilados y activamente expresados. En conjunto, estas características anormales en la expresión de diferentes genes supresores tumorales y oncogenes, contribuyen al desarrollo de un significativo número de neoplasias.²⁶

Diversos genes alterados a nivel epigenético en cáncer han sido blancos de la Curcumina.^{1,11,15} Link y cols. reportaron que la curcumina modulaba la metilación del ADN en células de cáncer de colon. En este trabajo se utilizó como modelo las líneas celulares HTC116, HT29 y RKO, con el fin de comparar los efectos de la curcumina en relación con los inhibidores de DNMTs y HDACs 5-aza-CdR y TSA. Los autores encontraron que con tratamientos prolongados de curcumina, se modifica la metilación de múltiples sitios CpG alrededor del genoma. Adicionalmente se reportó que la metilación global del genoma (medida por la metilación de LINE-1) no cambió y que los sitios con cambios en la metilación difieren significativamente entre células tratadas con curcumina y con 5-aza-CdR, lo cual sugiere que curcumina podría tener un efecto selectivo en este tipo de cáncer.³⁴

En neuroblastoma se ha descrito NEP (*neprilysin*) como una proteína que tiene un efecto inhibitorio sobre la vía Akt/NF-kB. Sin embargo, su promotor se encuentra hipermetilado en este cáncer. La curcumina en células de neuroblastoma N2a logró inducir la desmetilación de este promotor, lo que conlleva a la regulación de la vía Akt/NF-kB en estas células.⁵⁶

Un nuevo mecanismo se ha postulado, por el cual curcumina podría suprimir los efectos de la fibrosis hepática. Zheng y cols. muestran como curcumina reduce la proliferación e induce apoptosis en células hepáticas estrelladas. Este efecto fue asociado a la activación epigenética de PTEN (*Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10*). Los autores demuestran que los niveles de expresión de DNMT3b se reducen después del tratamiento con curcumina *in vivo* e *in vitro*. Y además muestran que el miR-29b está involucrado en la desmetilación de PTEN.⁵⁷

Adicional a estos hallazgos, existen múltiples reportes que muestran los mecanismos regulatorios de la curcumina sobre mecanismos epigenéticos en diferentes enfermedades.⁵⁸ En esta revisión se tratarán los mecanismos involucrados en la regulación epigenética de la vía Wnt/ β -catenina a profundidad, dada su importancia en el desarrollo de múltiples tipos de cáncer.⁵⁹

Regulación epigenética en la vía wnt/ β -catenina mediada por curcumina

Las moléculas con actividad inhibitoria de DNMTs o HDACs generalmente se usan en modelos donde se pretende re-expresar genes silenciados anormalmente por modificaciones epigenéticas. Actualmente los compuestos naturales son usados como posibles agentes terapéuticos o quimiopreventivos para múltiples tipos de enfermedades, no solo a nivel epigenético.^{14,21,60} Particularmente estos compuestos en especial moléculas pequeñas, pueden tener efectos de inhibición sobre las proteínas involucradas en la regulación epigenética^{14,60-63} (tabla 1).

Tabla 1. Compuestos de origen natural con actividad reportada sobre enzimas involucradas en la regulación epigenética

Compuesto Natural	Origen (Fuente)	Estructura	Efecto	Vías de señalización blanco	Referencias
Curcumina	<i>Curcuma Longa</i>	Polifenol	Inhibidor de DNMT, HDAC y HAT	NF-kB, Akt, Wnt/ β -catenina, AR	20,86,87,88
Apigenina	<i>Petroselinum</i>	Flavonoide	Inhibidor de DNMT	NF-kB	86,88,89
Alilo	<i>Allium sativum</i>	Compuesto organosulfurado	Inhibidor de HDAC	*p21	86,88
EGCG	<i>Camellia sinensis</i>	Polifenol	Inhibidor de DNMT y HAT	NF-kB, Akt, MAPK, AR, p53, ER	20,86,88
Genisteina	<i>Glycine max</i>	Isoflavonoide	Inhibidor de DNMT, HDAC y activador de HAT	NF-kB, Akt, MAPK, Wnt/ β -catenina, p53, *ER	86,88
Licopeno	<i>Solanum lycopersicum</i>	Isoprenoide	Agente desmetilante	NF-kB, Akt, MAPK	20,86,88
Resveratrol	<i>Vitis vinifera</i>	Polifenol	Inhibidor de DNMT	NF-kB, PI3K/Akt, MAPK, Wnt, *p53, *ER	20,86,88
Sulforafano	<i>Brassicaceae</i>	Isotiocianato	Inhibidor de DNMT y HDAC	*p21, *Bax	88,88

DNMTs: ADN metiltransferasas. HDACs: Desacetilasas de histonas.
HAT: Acetilinasas de histonas. EGCG: Epigallocatechin-3-gallate.

* Algunas proteínas blanco de estos compuestos naturales.

Múltiples vías de señalización han sido descritas como alteradas en cáncer; dentro de las vías de señalización que pueden ser reguladas por curcumina, se encuentra Wnt/ β -catenina, cuya desregulación es un evento frecuente en múltiples tipos de cáncer. β -catenina es el componente principal de esta vía de señalización, luego de su estabilización en citoplasma se transloca al núcleo e interactúa con la familia de factores transcripciones TCF/LEF (*lymphoid enhancer-binding Factor/T cell Factor*), promoviendo la expresión de genes blanco de Wnt (*wingless-type MMTV integration site family*). Estos genes están involucrados en diversos procesos celulares como proliferación, adhesión y diferenciación celular.⁵⁹

La vía se encuentra constitutivamente activa cuando Wnt interactúa con el receptor Fz (*frizzled*) y el co-receptor LRP5/6 (*low density lipoprotein receptor-related protein*). Este evento desencadena una serie de interacciones proteicas que determinan la actividad de la vía. En primer lugar, la proteína Dvl (*dishevelled*) recluta el complejo de degradación de β -catenina al co-receptor LRP5/6, lo cual permite la fosforilación de residuos en LRP5/6. Se ha descrito que estos residuos fosforilados inactivan a GSK3 β (*glycogen synthase kinase 3 beta*)⁵⁹ e impiden que la regulación de la vía se lleve a cabo. La regulación de la vía depende del control de los niveles celulares de β -catenina. Al no suceder la degradación β -catenina, esta proteína se acumula en el citoplasma y se transloca al núcleo^{59,64} donde activa los genes blanco (*Fig. 3A*). Específicamente la regulación de la vía es mediada por los antagonistas de Wnt, entre ellos: DKK3 (*dickkopf homolog 3*), SFRP1 (*secreted frizzled-related protein 1*), WIF1 (*WNT inhibitory factor 1*). Esto sucede cuando SFRP1 y WIF1 atrapan a Wnt impidiendo su unión con los receptores. Al mismo tiempo DKK3 se une a LRP5/6. Esto permite que GSK3 β y CKI (*casein kinase*) en complejo con Axin y APC (*adenomatous polyposis coli*) fosforilen a β -catenina en los residuos serina-treonina del dominio N-terminal de esta proteína. Brevemente; CKI fosforila a β -catenina en el residuo Ser45, posteriormente GSK3 β fosforila los tres residuos restantes (Ser33, Ser37, Thr41).⁵⁹ Luego β -catenina que ha sido fosforilada, es reconocida por β TrCP (*beta-transducin repeat containing*) promoviendo su ubiquitinación y posterior degradación por vía proteasomal. Paralelamente Dvl es atrapado por DACT3 (*dapper 3 homolog, antagonist of β -catenin*), lo que contribuye a que la fosforilación de β -catenina sea realizada⁶⁴. Cuando β -catenina no actúa como activador transcripcional de los genes blanco de Wnt, se ubica en la periferia de la célula al interactuar con la proteína E-cadherin presente en la membrana celular y con alfa-Catenina localizada en el citoplasma (*Fig. 3B*), formando un complejo multiproteico que se conecta con el citoesqueleto.⁶⁵ Este complejo es responsable en gran medida de la adhesión celular y las uniones célula-célula.

Las alteraciones que se presentan en esta vía de transducción de señales pueden tener orígenes genéticos y/o epigenéticos. Una de las alteraciones epigenéticas frecuentes en HCC es la hipermetilación de los promotores de la familia de genes SFRP, uno de los componentes claves en la regulación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina.⁶⁶ En otros tipos de cánceres se han descrito alteraciones en la metilación de los promotores tanto de los genes de regulación extracelular: WIF1, DKK (1, 2, y 3), SFRP (1, 2, 4 y 5), como en los genes que codifican para proteínas involucradas en la regulación intracelular de la vía: DACT (1, 2 y 3), Axin, APC; también se ha observado este patrón en E-cadherin y en ligandos de Wnt no transformantes (Wnt5a, 7a, 9a).⁶⁶

Tomando en cuenta la actividad de la curcumina sobre las enzimas DNMTs y HDACs, en la *tabla 2* se detallan estudios en los cuales se ha utilizado curcumina y otros compuestos naturales (similares estructuralmente a la curcumina) para re-expresar genes silenciados anormalmente por mecanismos epigenéticos,^{8,67-71} los cuales están involucrados en la regulación de la vía de señalización Wnt/ β -catenina (*Fig. 3*).

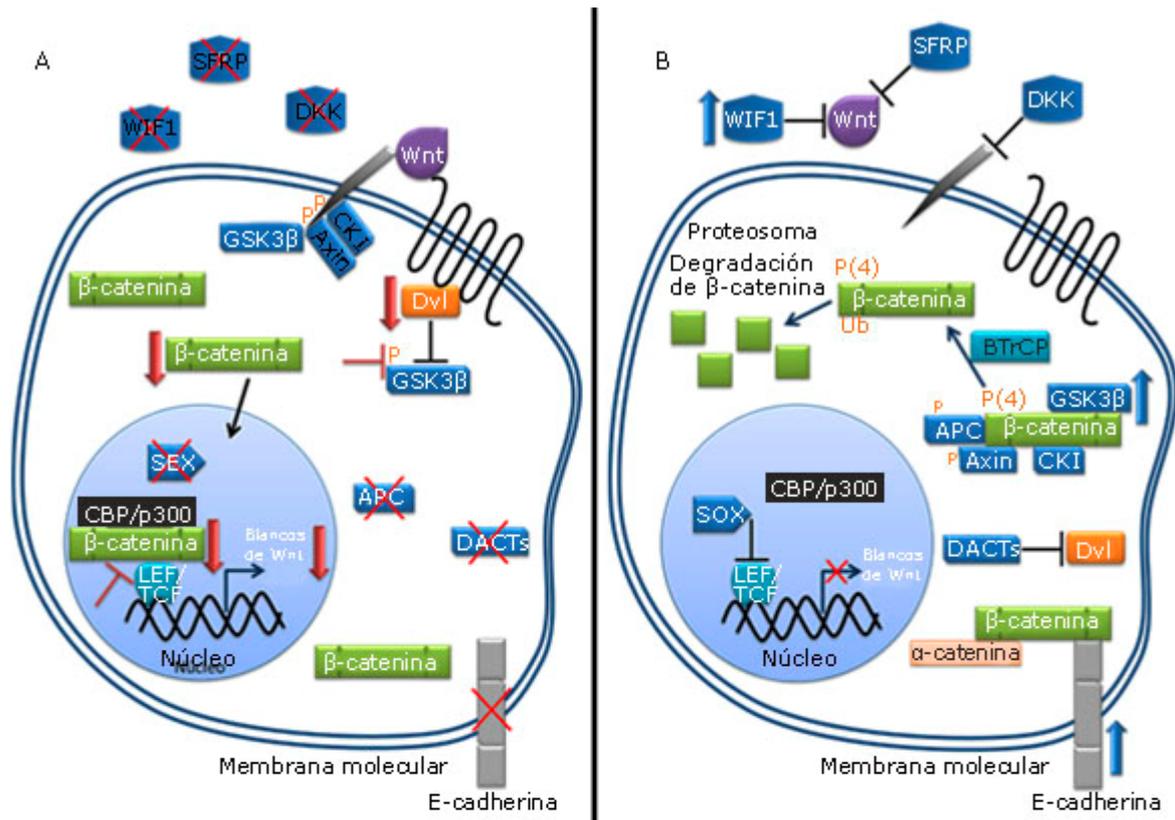


Fig. 3. Blancos moleculares de la curcumina en la vía de señalización Wnt/ β -catenina. En la figura se describe la vía de señalización Wnt/ β -catenina. (A) Cuando la vía esta activa β -catenina puede translocarse al núcleo activando genes blanco de Wnt. (B) La vía regulada por los antagonistas extracelulares de Wnt. Esto permite la formación del complejo de degradación de β -catenina. Por otro lado, algunos componentes de la vía pueden encontrarse silenciados por mecanismos epigenéticos (X), este evento se asocia a la desregulación de la vía y la expresión de genes blanco de Wnt. Con flechas azules (\uparrow) se indican los componentes de Wnt/ β -catenina que pueden ser regulados positivamente por el compuesto natural curcumina, lo cual favorece la regulación de la vía. Así mismo los componentes que son regulados negativamente son indicados con flechas rojas (\downarrow), estos componentes favorecen la translocación de β -catenina hacia núcleo. Adicionalmente curcumina también puede inhibir (\perp) la inactivación de GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 beta) mediada por Dvl (Dishevelled), y la interacción entre β -catenina y el factor transcripcional TCF. Wnt: wingless-type MMTV integration site family. DKK: dickkopf homolog. SFRP: secreted frizzled-related protein. WIF1: WNT inhibitory factor. CKI: casein kinase. APC: adenomatous polyposis coli. DACT: dapper homolog, antagonist of β -catenin. β TrCP: beta-transducin repeat containing. TCF/LEF: Lymphoid enhancer-binding Factor/T cell Factor. Ub: ubiquitinación, P: fosforilación.

Tabla 2. Compuestos naturales y su efecto sobre componentes de la vía Wnt/ β -catenina

Compuesto Natural	Estructura	Tipo de cáncer	Actividad	Efecto	Referencias
Curcumina, DMC, BDMC	Polifenol	Pulmón	Desmetilación promotor	Re-expresión WIF1	13,97
EGCG	Polifenol	Pulmón	Desmetilación promotor	Re-expresión WIF1	98
Genisteína	Isoflavonoide	Colon	Aumento acetilación de la histona H3	Re-expresión DKK1	99
Genisteína	Isoflavonoide	Colon	Desmetilación promotor	Re-expresión Wnt5a	100
Genisteína	Isoflavonoide	Colon	Desmetilación promotor	Re-expresión SFRP2	101

DMC: demetoxicurcumina. BDMC: bisdemetoxicurcumina. EGCG: Epigallocatechin-3-gallate.

WIF1: *WNT inhibitory factor 1*. DKK1: *dickkopf homolog 1*.

Wnt5a: *WNT non-transforming ligand 5a*. SFRP2: *secreted frizzled-related protein 2*.

El gen supresor tumoral WIF1 es un componente que regula la vía de señalización Wnt/ β -catenina a nivel extracelular. El promotor de este gen se ha descrito hipermetilado prevaleciendo en distintos cánceres: Pulmón, mama, Vejiga, cáncer gástrico, leucemia, entre otros.⁶⁶ Existen pocos estudios que relacionen la actividad de desmetilación de la curcumina en componentes silenciados por mecanismos epigenéticos involucrados en la vía Wnt/ β -catenina. En un estudio realizado por Liu y cols.⁸ en células de cáncer de pulmón (*non-small cell lung cancer*), se evaluó el efecto de la curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina sobre la metilación de la región promotora del gen que codifica para WIF. Se observó que los tres curcuminoides poseen actividad de desmetilación *in vitro* al compararlos con el agente desmetilante 5-aza. Las concentraciones mínimas de curcumina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina que inhiben la actividad de la enzima DNMT1 significativamente fueron de 10 μ M, 5 μ M y 1 μ M respectivamente. Adicionalmente se verificó la metilación del promotor de WIF1 en las líneas celulares A549, H460 y SPC-A-1 respecto al control con células normales de epitelio respiratorio (SAEC), mediante MSP (PCR específica de metilación). Y se encontró que luego de tratar las células concentraciones de 20 μ M para cada curcuminoides por 3 días, solo se obtuvieron resultados significativos de desmetilación del promotor de WIF1 para las células tratadas con demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina respecto al agente desmetilante 5Aza. Sin embargo, al tratar las células con concentraciones más altas de curcumina (> 40 μ M) también se observaron efectos de desmetilación sobre el promotor de WIF1.

En este estudio también se determinó si los tratamientos con los curcuminoides aumentan los niveles de ARN mensajero del gen WIF1; en la línea celular A549 se realizó ensayos de RT-PCR con curvas de concentración de 20 a 100 μ M para todos los curcuminoides. Al normalizar los resultados con el gen de GAPDH (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*) se determinó que a partir de concentraciones de 20 μ M se restaura la expresión de WIF1 mediante los agentes demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina. Para el caso de la curcumina se observó que son necesarias concentraciones a partir de 40 μ M para lograr el mismo efecto que los otros dos agentes. Cabe destacar que el polifenol bisdemetoxicurcumina generó los mejores resultados en la re-expresión de WIF1 a concentraciones más bajas, esto se correlaciona con el aumento en los niveles de la proteína WIF1 en el ensayo de

Western Blot.⁸ Cabe destacar que las concentraciones utilizadas en este estudio no evidenciaron cambios morfológicos que se asociaran a efectos de citotoxicidad en el modelo utilizado.

En otro estudio realizado también por Liu y cols.⁶⁷ en células de cáncer de pulmón y con base en el estudio anteriormente descrito, se evaluó el efecto de bisdemetoxicurcumina sobre los componentes de la vía de señalización Wnt/ β -catenina. Se determinó que este polifenol al promover la re-expresión de WIF1 también regula negativamente los niveles nucleares de β -catenina en estas líneas celulares. Se observó además que la bisdemetoxicurcumina inhibe la proteína DNMT1, sin afectar su expresión, lo cual presupone que el efecto de esta molécula se da sobre la actividad de la DNMT1, en correlación con el estudio anterior.

CONCLUSIONES

La curcumina de ha descrito como el principal componente con actividad biológica de la planta *Curcuma longa*, sus propiedades antitumorales le han determinado como un compuesto con características quimiopreventivas y terapéuticas, no en vano ha sido utilizada ampliamente en la medicina tradicional de los países asiáticos. La cualidad anticancerígena de la curcumina además de estar relacionada a la modulación de diferentes vías de señalización, también se ha asociado con componentes epigenéticos; se ha detallado molecularmente los mecanismos involucrados en la inhibición de enzimas DNMTs y HDACs, lo cual hace pensar que este polifenol podría revertir múltiples alteraciones presentes en el cáncer, tanto en la progresión como en la enfermedad. Dentro de los mecanismos epigenéticos que se encuentran alterados en cáncer, una enfermedad compleja que es el resultado de alteraciones genéticas y/o epigenéticas, aparece como un componente clave la hipermetilación puntual de regiones del genoma donde se encuentran genes que regulan la proliferación, apoptosis, reparación celular, entre otros. Ha sido bien descrito como la curcumina puede revertir estas alteraciones epigenéticas en múltiples tipos de cáncer, sin embargo en la vía de señalización Wnt/ β -catenina pareciera ser que el polifenol bisdemetoxicurcumina derivado de la misma planta, tiene un mayor efecto en la restauración de la expresión de WIF1 (componente clave en la regulación a nivel extracelular de la vía) en concentraciones bajas, no es claro todavía con estos pocos estudios a nivel epigenético en cáncer de pulmón esta hipótesis. Por esto se hace necesario realizar más estudios en diferentes modelos celulares los cuales se evalúen más componentes de la vía, como la familia de genes DKK y SFRP; ya que compuestos naturales como la genisteína o EGCG, con estructura química similar a la curcumina, poseen efectos epigenéticos sobre la expresión de estos genes en diferentes tipos de cáncer. La curcumina podría ser un agente con propiedades interesantes para el tratamiento de alteraciones en cáncer. Actualmente se realizan pruebas clínicas y se han descrito mecanismos relacionados a la actividad anticancerígena aduanales a los descritos en el presente manuscrito.

Aunque es importante el conocimiento completo de los mecanismos de acción de la curcumina, las personas finalmente terminan consumiendo la especia completa que contiene una gran variedad de fitoquímicos. En este sentido, es necesario abordar más acerca de qué implicaciones biológicas y quimiopreventivas tiene el consumo de la especia completa, un tema aun no tratado de manera exhaustiva en investigaciones científicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la dirección de investigación del Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM), Institución Universitaria Adscrita al municipio de Medellín (ITM Grant: P10242).

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran no existen conflictos de intereses.

FINANCIACIÓN

Dirección de Investigaciones del Instituto Tecnológico Metropolitano. (ITM Grant P10242).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pulido-Moran M, Moreno-Fernandez J, Ramirez-Tortosa C, Ramirez-Tortosa M. Curcumin and Health. *Molecules*. 2016;21(264):1-22.
2. Gupta SC, Sung B, Kim JH, Prasad S, Li S, Aggarwal BB. Multitargeting by turmeric, the golden spice : From kitchen to clinic. *Mol Nutr Food Res*. 2012;0:1-19.
3. Aggarwal BB, Yuan W, Li S, Gupta SC. Curcumin-free turmeric exhibits anti-inflammatory and anticancer activities: Identification of novel components of turmeric. *Mol Nutr Food Res*. 2013;57(9):1529-42.
4. Taylor L. Turmeric (*Curcuma longa*). Tropical Plant Database. Available from: <http://www.rain-tree.com/tumeric.htm#.U02MVfI5PZ9>
5. Tropical Botanical Garden. *Curcuma longa*. Available from: http://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=3652
6. Aggarwal B. The Molecular Targets and Therapeutic Uses of Curcumin in Health and Disease [Internet]. Aggarwal BB, Surh Y-J, Shishodia S, editors. Boston, MA: Springer US; 2007. 500 p. Disponible en: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-0-387-46401-5>
7. Pandey A, Gupta R, Srivastava R. Curcumin-The Yellow Magic. *Asian J Appl Sci*. 2011;4(4):343-54.
8. Liu Y-L, Yang H-P, Gong L, Tang C-L, Wang H-J. Hypomethylation effects of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin on WIF-1 promoter in non-small cell lung cancer cell lines. *Mol Med Rep*. 2011;4(4):675-9.
9. Barzegar A. The role of electron-transfer and H-atom donation on the superb antioxidant activity and free radical reaction of curcumin. *Food Chem*. 2012;135(3):1369-76.

10. Bhullar KS, Jha A, Youssef D, Rupasinghe HP V. Curcumin and Its Carbocyclic Analogs: Structure-Activity in Relation to Antioxidant and Selected Biological Properties. *Molecules*. 2013;18(5):5389-404.
11. Shehzad A, Lee YS. Molecular mechanisms of curcumin action: Signal transduction. *BioFactors*. 2013;39(1):27-36.
12. Perrone D, Ardito F, Giannatempo G, Dioguardi M, Troiano G, Lo Russo L, *et al.* Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Exp Ther Med*. 2015;10(5):1615-23.
13. Priyadarsini KI, Maity DK, Naik GH, Kumar MS, Unnikrishnan MK, Satav JG, *et al.* Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free Radic Biol Med*. 2003;35(5):475-84.
14. Sarkar F, Li Y, Wang Z, Kong D. Cellular signaling perturbation by natural products. *Cell Signal*. 2009;21(11):1541-7.
15. Aggarwal BB, Deb L, Prasad S. Curcumin differs from tetrahydrocurcumin for molecular targets, signaling pathways and cellular responses. *Molecules*. 2015;20(1):185-205.
16. Sharma RA, Ireson CR, Verschoyle RD, Hill KA, Williams ML, Leuratti C, *et al.* Effects of dietary curcumin on glutathione S-transferase and malondialdehyde-DNA adducts in rat liver and colon mucosa: relationship with drug levels. *Clin Cancer Res*. 2001;7(5):1452-8.
17. Odenthal J, Van Heumen B, Roelofs H, Te Morsche R, Marian B, Nagengast F, *et al.* The influence of curcumin, quercetin, and eicosapentaenoic acid on the expression of phase II detoxification enzymes in the intestinal cell lines HT-29, Caco-2, HuTu 80, and LT97. *Nutr Cancer*. 2012;64(6):856-63.
18. González-Reyes S, Guzmán-Beltrán S, Medina-Campos ON, Pedraza-Chaverri J. Curcumin pretreatment induces Nrf2 and an antioxidant response and prevents hemin-induced toxicity in primary cultures of cerebellar granule neurons of rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:801418.
19. Liu Z, Dou W, Zheng Y, Wen Q, Qin M, Wang X, *et al.* Curcumin upregulates Nrf2 nuclear translocation and protects rat hepatic stellate cells against oxidative stress. *Mol Med Rep*. 2016;13(2):1717-24.
20. Yu S, Shen G, Khor TO, Kim J-H, Kong A-NT. Curcumin inhibits Akt/mammalian target of rapamycin signaling through protein phosphatase-dependent mechanism. *Mol Cancer Ther*. 2008;7(9):2609-20.
21. Prasad CP, Rath G, Mathur S, Bhatnagar D, Ralhan R. Potent growth suppressive activity of curcumin in human breast cancer cells: Modulation of Wnt/beta-catenin signaling. *Chem Biol Interact*. 2009;181(2):263-71.
22. Zhang Z, Chen H, Xu C, Song L, Huang L, Lai Y, *et al.* Curcumin inhibits tumor epithelial-mesenchymal transition by downregulating the Wnt signaling pathway and upregulating NKD2 expression in colon cancer cells. *Oncol Rep*. 2016;26:15-23.
23. Liu BL, Chen YP, Cheng H, Wang YY, Rui HL, Yang M, *et al.* The Protective Effects of Curcumin on Obesity-Related Glomerulopathy Are Associated with Inhibition of

Wnt/B-Catenin Signaling Activation in Podocytes. Evidence-based Complement Altern Med. 2015;2015.

24. Ting AH, MCGarvey KM, Baylin SB. The cancer epigenome-components and functional correlates. *Genes Dev.* 2006;20:3215-31.

25. Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci.* 2006;31(2):89-97.

26. Baylin SB, Ohm JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nat Rev Cancer.* 2006;6(2):107-16.

27. Jjingo D, Conley A, Soojin V, Lunyak V, Jordan I. On the presence and role of human gene-body DNA methylation. *Oncotarget.* 2012;3(4):462-74.

28. Jones P. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2012;13:484-92.

29. Nagaraju GP, Zhu S, Wen J, Farris AB, Adsay VN, Diaz R, *et al.* Novel synthetic curcumin analogues EF31 and UBS109 are potent DNA hypomethylating agents in pancreatic cancer. *Cancer Lett.* 2013;341:195-203.

30. Medina-Franco JL, Lopez-Vallejo F, Kuck D, Lyko F. Natural products as DNA methyltransferase inhibitors: A computer-aided discovery approach. *Mol Divers.* 2011;15(2):293-304.

31. Liu Z, Xie Z, Jones W, Pavlovicz RE, Liu S, Yu J, *et al.* Curcumin is a potent DNA hypomethylation agent. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(3):706-9.

32. Shu L, Khor TO, Lee J-H, Boyanapalli SSS, Huang Y, Wu T-Y, *et al.* Epigenetic CpG demethylation of the promoter and reactivation of the expression of Neurog1 by curcumin in prostate LNCaP cells. *AAPS J.* 2011;13(4):606-14.

33. Reuter S, Gupta SC, Park B, Goel A, Aggarwal BB. Epigenetic changes induced by curcumin and other natural compounds. *Genes Nutr.* 2011;6(2):93-108.

34. Link A, Balaguer F, Shen Y, Lozano JJ, Leung H-CE, Boland CR, *et al.* Curcumin modulates DNA methylation in colorectal cancer cells. *PLoS One.* 2013;8(2):e57709.

35. Yu J, Peng Y, Wu LC, Xie Z, Deng Y, Hughes T, *et al.* Curcumin Down-Regulates DNA Methyltransferase 1 and Plays an Anti-Leukemic Role in Acute Myeloid Leukemia. *PLoS One.* 2013;8(2):1-9.

36. Teiten MH, Dicato M, Diederich M. Curcumin as a regulator of epigenetic events. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(9):1619-29.

37. Chang L-C, Yu Y-L. Dietary components as epigenetic-regulating agents against cancer. *BioMedicine.* 2016;6(1):9-16.

38. Huang H, Sabari BR, Garcia BA, David Allis C, Zhao Y. SnapShot: Histone modifications. *Cell.* 2014;159(2):458-458.e1.

39. Arnaudo AM, Garcia BA. Proteomic characterization of novel histone post-translational modifications. *Epigenetics Chromatin.* 2013;6:24.

40. Balasubramanyam K, Varier RA, Altaf M, Swaminathan V, Siddappa NB, Ranga U, *et al.* Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription. *J Biol Chem.* 2004;279(49):51163-71.
41. Chen Y, Shu W, Chen W, Wu Q, Liu H, Cui G. Curcumin, both histone deacetylase and p300/CBP-specific inhibitor, represses the activity of nuclear factor kappa B and Notch 1 in Raji cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2007;101(6):427-33.
42. Wang L, Sun H, Pan B, Zhu J, Huang G, Huang X, *et al.* Inhibition of histone acetylation by curcumin reduces alcohol-induced expression of heart development-related transcription factors in cardiac progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;424(3):593-6.
43. Sun H, Zhu J, Lu T, Huang X, Tian J. Curcumin-mediated cardiac defects in mouse is associated with a reduced histone H3 acetylation and reduced expression of cardiac transcription factors. *Cardiovasc Toxicol.* 2014;14(2):162-9.
44. He P, Zhou R, Hu G, Liu Z, Jin Y, Yang G, *et al.* Curcumin-induced histone acetylation inhibition improves stress-induced gastric ulcer disease in rats. *Mol Med Rep.* 2014;1911-6.
45. Zhu X, Li Q, Chang R, Yang D, Song Z, Guo Q, *et al.* Curcumin alleviates neuropathic pain by inhibiting p300/CBP histone acetyltransferase activity-regulated expression of BDNF and Cox-2 in a rat model. *PLoS One.* 2014;9(3):e91303.
46. Bora-Tatar G, Dayangaç-Erden D, Demir AS, Dalkara S, Yelekçi K, Erdem-Yurter H. Molecular modifications on carboxylic acid derivatives as potent histone deacetylase inhibitors: Activity and docking studies. *Bioorg Med Chem.* 2009;17(14):5219-28.
47. Lee SJ, Krauthauser C, Maduskuie V, Fawcett PT, Olson JM, Rajasekaran SA. Curcumin-induced HDAC inhibition and attenuation of medulloblastoma growth in vitro and in vivo. *BMC Cancer.* 2011;11(1):144.
48. Wang SH, Lin PY, Chiu YC, Huang JS, Kuo YT, Wu JC, *et al.* Curcumin-mediated HDAC inhibition suppresses the DNA damage response and contributes to increased DNA damage sensitivity. *PLoS One.* 2015;10(7):1-19.
49. Xia X, Cai H, Qin S, Xu C. Histone Acetylase Inhibitor Curcumin Impairs Mouse Spermiogenesis-An In Vitro Study. *PLoS One.* 2012;7(11):1-11.
50. Zammataro M, Sortino MA, Parenti C, Gereau RW, Chiechio S. HDAC and HAT inhibitors differently affect analgesia mediated by group II metabotropic glutamate receptors. *Mol Pain.* 2014;10:68.
51. Guo Y, Shu L, Chengyue Z, Su Z-Y, Kong A-NT. Curcumin inhibits anchorage-independent growth of HT29 human colon cancer cells by targeting epigenetic restoration of the tumor suppressor gene DLEC1. *Biochem Pharmacol.* 2015;94(2):69-78.
52. Marquardt JU, Gomez-Quiroz L, Arreguin Camacho LO, Pinna F, Lee Y-H, Kitade M, *et al.* Curcumin effectively inhibits oncogenic NF- κ B signaling and restrains stemness features in liver cancer. *J Hepatol.* 2015;63(3):661-9.

53. Sarkar R, Mukherjee A, Mukherjee S, Biswas R, Biswas J, Roy M. Curcumin Augments the Efficacy of Antitumor Drugs Used in Leukemia by Modulation of Heat Shock Proteins Via HDAC6. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2014;33(3):247-63.
54. Omotuyi IO, Abiodun MO, Komolafe K, Ejelonu OC, Olusanya O. Curcumin and hydroxamate-derivative (PCI-34058) interfere with histone deacetylase I catalytic core Asp-His charge relay system: atomistic simulation studies. *J Mol Model.* 2015;21(5):109.
55. Sati S, Tanwar VS, Kumar KA, Patowary A, Jain V, Ghosh S, *et al.* High resolution methylome map of rat indicates role of intragenic DNA methylation in identification of coding region. *PLoS One.* 2012;7(2):e31621.
56. Deng Y, Lu X, Wang L, Li T, Ding Y, Cao H, *et al.* Curcumin inhibits the AKT/NF- κ B signaling via CpG demethylation of the promoter and restoration of NEP in the N2a cell line. *AAPS J.* 2014;16(4):649-57.
57. Zheng J, Wu C, Lin Z, Guo Y, Shi L, Dong P, *et al.* Curcumin up-regulates phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 through microRNA-mediated control of DNA methylation - A novel mechanism suppressing liver fibrosis. *FEBS J.* 2014;281(1):88-103.
58. Boyanapalli SSS, Kong A-NT. Curcumin, the King of Spices: Epigenetic Regulatory Mechanisms in the Prevention of Cancer, Neurological, and Inflammatory Diseases. *Curr Pharmacol Reports.* 2015;1(2):129-39.
59. Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2012;13(1):11-26.
60. Gerhauser C. Cancer Chemoprevention and Nutri-Epigenetics: State of the Art and Future Challenges. *Top Curr Chem.* 2013;329_73-132.
61. Teiten M-H, Eifes S, Dicato M, Diederich M. Curcumin-the paradigm of a multi-target natural compound with applications in cancer prevention and treatment. *Toxins.* 2010;2:128-62.
62. Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol TO. Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. *Clin Epigenetics.* 2010;1(3-4):101-16.
63. Arango D, Morohashi K, Yilmaz A, Kuramochi K, Parihar A, Brahimaj B, *et al.* Molecular basis for the action of a dietary flavonoid revealed by the comprehensive identification of apigenin human targets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(24):E2153-62.
64. Polaskis P. Wnt signaling in cancer. *Cold Spring Harb Perspectives Biol.* 2012;4(5):1-14.
65. Marie PJ, Haÿ E. Cadherins and Wnt signalling: a functional link controlling bone formation. *Bonekey Rep.* 2013;2(4):330.
66. Ying Y, Tao Q. Epigenetic disruption of the WNT/B-catenin signaling pathway in human cancers. *Epigenetics.* 2009;4(5):307-12.

67. Liu Y-L, Yang H-P, Zhou X, Gong L, Tang C-L, Wang H-J. The hypomethylation agent bisdemethoxycurcumin acts on the WIF-1 promoter, inhibits the canonical Wnt pathway and induces apoptosis in human non-small-cell lung cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. 2011;11(9):1098-110.

68. Gao Z, Xu Z, Hung M-S, Lin Y-C, Wang T, Gong M, *et al*. Promoter demethylation of WIF-1 by epigallocatechin-3-gallate in lung cancer cells. *Anticancer Res*. 2009;29(6):2025-30.

69. Wang H, Li Q, Chen H. Genistein affects histone modifications on Dickkopf-related protein 1 (DKK1) gene in SW480 human colon cancer cell line. *PLoS One*. 2012;7(7):e40955.

70. Wang Z, Chen H. Genistein increases gene expression by demethylation of WNT5a promoter in colon cancer cell line SW1116. *Anticancer Res*. 2010;30(11):4537-45.

71. Zhang Y, Chen H. Genistein attenuates WNT signaling by up-regulating sFRP2 in a human colon cancer cell line. *Exp Biol Med*. 2011;236(6):714-22.

Recibido: 19 de julio de 2015.

Aprobado: 28 de septiembre de 2016.

Fabian M Cortés-Mancera. Instituto Tecnológico Metropolitano Medellín, Colombia.
Correo electrónico: fabiancortes@itm.edu.co