

Genes y Cáncer

José Luis Santelices M.

Estudiante de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes

Alejandro Corvalan R.

Laboratorio de Biología Molecular, Clínica las Condes e Instituto Chileno Japonés de Enfermedades Digestivas, Hospital Clínico San Borja Arriarán

Actualmente existen suficientes evidencias científicas para afirmar que el cáncer es una enfermedad genética. A diferencia de la genética clásica en que sólo las mutaciones en células germinales son consideradas, en cáncer las mutaciones ocurren principalmente en células somáticas(1). Esto significa que alteraciones de genes específicos en células particulares serán las responsables de la patogénesis de esta enfermedad1. Estos genes tendrían funciones positivas o negativas, en procesos críticos de la célula normal, probablemente relacionadas con proliferación o apoptosis. Los genes con función positiva se denominan oncogenes y su patología molecular está relacionada a una sobrefunción o activación. En cambio, los genes con función negativa se denominan antioncogenes o genes supresores de tumores y su patología está asociada con la inactivación o pérdida de función. De este modo la ruptura de un equilibrio entre oncogenes y genes supresores de tumores sería central en carcinogénesis(2). Un aspecto de gran importancia es la demostración de transmisión hereditaria de mutaciones asociadas a inactivación de genes supresores de tumores que explicarían las formas familiares de cáncer.

Los principales mecanismos de activación de oncogenes son amplificación, translocación y mutación puntual. Los principales mecanismos de inactivación de los genes supresores de tumores son mutación puntual, delección e inactivación funcional.

ACTIVACIÓN DE ONCOGENES

Amplificación

En general los genes existen en sólo una copia por molécula de DNA.

Amplificación significa aumento del número de copias de un gen en particular, entre 20 a 500 veces. Esta magnitud de amplificación a veces permite su identificación por técnicas citogenéticas, reconociéndose como Regiones de Tinción Homogénea (HSR, homogeneous staining region) o Minutas Dobles (DB, double minutes). La amplificación es un fenómeno frecuente en cáncer, pero ocurre en etapas avanzadas de progresión tumoral, sugiriendo una utilidad clínica en el pronóstico de la enfermedad. Los mecanismos por los cuales se produce esta amplificación no son del todo conocidos actualmente, postulándose la extrareplicación o recombinación cromosómica.

Ejemplos de oncogenes activados por amplificación útiles como factor pronóstico son c-erbB-2 en cáncer de mama o cáncer de ovario y N-myc en Neuroblastoma. El oncogen cérboB2 es un receptor de factor de crecimiento, en el cual la amplificación produce un aumento en el número de receptores con el consiguiente aumento de estímulo proliferativo y también de capacidad metastásica. La amplificación de c-erbB-2 se asocia a otras

alteraciones genéticas y permitiría distinguir dos formas de cáncer de mama. Por otra parte, y a partir de la identificación de este receptor se han desarrollado anticuerpos anti c-erb-B2 como herramienta terapéutica disponible para uso clínico actualmente.

Translocación

A nivel cromosómico los genes tienen ubicaciones físicas particulares. Translocación significa reordenamiento cromosómico que involucra genes específicos, creando una fusión de genes. Las translocaciones son particularmente frecuentes en tumores hematológicos. En el Linfoma Folicular por ejemplo, la translocación t14:18 crea un nuevo gen formado por la región reguladora de la cadena pesada de immunoglobulinas (IgH) (cromosoma 14) y el oncogen bcl-2 (cromosoma18). El oncogen bcl-2 participa en el bloqueo de la apoptosis o muerte celular programada y al estar translocado al cromosoma 14 queda bajo control de IgH y es sobreexpresado en forma constitutiva. El mecanismo molecular no es conocido actualmente, sin embargo se ha postulado que podría estar basado en el uso de una vía metabólica antioxidante. La apoptosis es un mecanismo fundamental para el control de poblaciones celulares y dado que IgH es una región de alta expresión génica, particularmente en linfocitos del centro germinal, bcl2 es activado al quedar bajo el control de IgH. Dado que los linfocitos portadores de la translocación IgH-bcl2 no entrarán en apoptosis, estos se caracterizan por una mayor sobrevida aunque sin aumento en su proliferación. Este bloqueo de apoptosis se ha observado clínicamente en la resistencia a Mitomicina C en pacientes portadores de la translocación IgH/bcl2 sometidos a quimioterapia⁸. Las características biológicas de inmortalidad sin altos niveles de proliferación en estas células se correlacionan muy bien clínicamente con la historia natural indolente del Linfoma Folicular. Por otra parte, dado que la translocación sólo ocurre en las células neoplásicas, la detección molecular de IgH/bcl2 constituye una herramienta de monitoreo para evaluar la respuesta a tratamiento de esta enfermedad.

Mutación puntual

Mutación puntual significa el cambio de un nucleótido por otro en la secuencia de DNA. Este cambio puede tener distintas consecuencias; puede activar oncogenes al crear secuencias con mayor actividad biológica, o inactivar genes supresores de tumores, al impedir su expresión. El oncogen ras es el prototipo de activación de oncogenes por mutación puntual. Ras es una familia de genes que codifican para proteínas denominadas proteínas G. Estas proteínas actúan como transductoras de señales desde el medio externo hacia el interior de la célula. La proteína ras es una GTPasa, una enzima que se activa al unirse a GTP y se inactiva al hidrolisarlo, terminando así la transducción de señales al interior de la célula.

Mutaciones puntuales en 3 de los 189 codones (codones 12, 13 y 66) activan al oncogen ras. Así ras, ya no requiere de señales externas para estimular proliferación celular, ya que se mantiene activado sin liberar GTP. Ras es el oncogen activado con mayor frecuencia en cáncer humano y también en lesiones preneoplásicas¹. En efecto, se ha postulado que el origen del carcinoma colorrectal sería a través de una serie sucesiva de lesiones consideradas preneoplásicas (adenomas), las cuales progresarán a carcinoma¹¹. El oncogen ras se ha identificado mutado en al menos 50% de adenomas colorrectales y en un porcentaje aún mayor en carcinomas. Por otra parte, Volgestein y cols han identificado mutaciones de ras en deposiciones de pacientes con adenomas y carcinomas colorrectales, sugiriendo una estrategia no invasiva de diagnóstico precoz/screening en carcinoma colorrectal. Otro aspecto de correlación clínica interesante es la ausencia de mutaciones del

oncogen ras en la progresión de enfermedad inflamatoria intestinal a carcinoma colorrectal, sugiriendo una patogénesis diferente a la observada en la secuencia adenomaócarcinoma lo cual es concordante con el modelo de lesión plana propuesto para la colitis ulceórosa.

INACTIVACIÓN DE GENES SUPRESORES DE TUMORES

Mutación puntual

La mutación puntual es uno de los mecanismos de inactivación de genes supresores de tumores. Las mutaciones que inactivan genes supresores de tumores son variadas, produciendo codones de detención o cambios en marco de lectura¹. A diferencia de los oncogenes, las mutaciones no afectan nucleótidos específicos, sino más bien regiones críticas en la función. p53 es un ejemplo de ello. p53 es una fosfoproteína que regula la replicación del DNA, proliferación y muerte celular. Ante una lesión del DNA, esta proteína se fija en la hebra deteniendo el ciclo celular en G1, y de esta manera da tiempo para reparar el daño. Si el daño es irreparable, p53 lleva a la célula a apoptosis. La región de mayor frecuencia de mutaciones en p53 incluyen a los exones 5 a 8. Esta región es la más conservada evolutivamente y al mismo tiempo la región de unión al DNA¹⁶. La inactivación de p53 se ha descrito en alrededor del 80% de tumores humanos y en algunos de ellos es un factor pronóstico, pero en otros es un marcador de malignidad, permitiendo distinguir entre neoplasias benignas y malignas. Una característica de las mutaciones puntuales en genes supresores de tumores, es que se pueden transmitir en forma hereditaria. Un ejemplo de ello es el síndrome de Li-Fraumeni, una forma de cáncer hereditario múltiple (mama, osteosarcoma y leucemia).

En 1989, Friend y cols describieron mutaciones puntuales y/o delecciones en ambos alelos de p53, en tumores de miembros de familias de Li-Fraumeni. Al analizar linfocitos de sangre periférica o biopsias de piel de pacientes con cáncer y familiares sin neoplasia, observaron que ambos tenían la misma mutación en un alelo de p53, sugiriendo que la transmisión hereditaria sería la responsable de la alta susceptibilidad de cáncer en estas familias¹⁸. Al analizar alteraciones de p53 en los tejidos tumorales, observaron que además de la mutación de un alelo, se agregaba la delección y/o mutación del otro alelo. Este segundo evento sería adquirido y estaría asociado al desarrollo del síndrome. Este ejemplo de cáncer hereditario concuerda con el modelo de dos eventos planteados por A Knudson y que explicaría las bases genéticas del cáncer hereditario. En términos prácticos, la identificación de mutaciones hereditarias de p53 en el Síndrome de Li-Fraumeni permitió plantear la posibilidad de diagnosticar la susceptibilidad de cáncer.

Delección

Análisis citogenéticos indican que la delección es frecuente en tumores neuroendocrinos. Uno de ellos, el gen de la susceptibilidad del Retinoblastoma (Rb), es el prototipo de la inactivación por delección pudiendo ser cromosómica o intersticial¹⁹. El producto proteico de Rb es una fosfoproteína que regula el ciclo celular a través de la inhibición del oncogen c-myc. De este modo en su forma activa hipofosforilada, actúa como un freno a la transición G0-G1 para la entrada a la fase S del ciclo celular. La pérdida de Rb elimina este freno y por lo tanto permite la entrada a la proliferación celular. De esta manera, la delección del gen Rb tendría implicancia principalmente en las etapas iniciales de una lesión maligna. El gen Rb, en la forma familiar del Retinoblastoma, tumor del globo ocular, se caracteriza por la

mutación puntual en un alelo de células germinales. En células somáticas tumorales se agrega la delección del alelo restante. Ambos eventos son compatibles con la hipótesis de Knudson. Una aplicación clínica, además del diagnóstico de la susceptibilidad del Retinoblastoma familiar es en la progresión adenomaócarcinoma de las neoplasias neuroendocrinas. En general en estos tumores no existe una buena correlación entre la morfología y la naturaleza benigna y maligna de ellas. En este sentido Cryns y col analizaron la inactivación de Rb en neoplasias de paratiroides, un tipo de carcinoma neuroendocrino. En 8/9 (88%) casos de carcinomas y en 0/21 adenomas Rb estaba inactivado. Esta información sugiere que la presencia o ausencia de Rb podría ser útil en el diagnóstico diferencial de adenoma y carcinoma de paratiroides.

Inactivación funcional

La inactivación funcional es el mecanismo utilizado por los virus DNA (papilomavirus, adenovirus y SV40) para producir transformación. En el carcinoma de cuello uterino, las cepas oncogénicas del virus papiloma humano (HPV)16 y HPV se caracterizan por poseer esta capacidad. Esta transformación está relacionada con la integración del genoma viral al ADN de la célula infectada y es acompañada de una sobreexpresión de los genes virales E6 y E7. Luego, estas proteínas virales interactúan con proteínas celulares que regulan en forma negativa la progresión del ciclo celular (p53, Rb) anulando su función. Las proteínas E6 y E7 se unen a p53 y Rb respectivamente y la inactivación de éstos se realizan por diferentes vías. p53 al estar unido a E6 E6 E6 E6 es inactivado por degradación enzimática. El caso de Rb y E6 es más complejo ya que Rb bloquea genes específicos que promueven la proliferación celular. Estos genes están regulados por el factor de transcripción E2F. Rb se une al dominio de activación de E2F y así reprime al promotor por un mecanismo poco conocido. Para esto, Rb se asocia con una deacetilasa de histona (HDAC1) a través del sitio activo de Rb. La asociación con esta acetilasa está alterada tanto por mutaciones de Rb como por la unión de la oncoproteína viral E7. Así entonces Rb unido a E7 no puede ligar a HDAC1, con lo que pierde la capacidad de reprimir al promotor E2F, perdiéndose la regulación del ciclo celular. De este modo ambas proteínas virales difieren mucho en su mecanismo de acción, y esto también se refleja en su capacidad oncogénica. Es así como en estudios en tumores de piel se ha demostrado que E7 promueve la formación de tumores benignos, a diferencia de E6 que está relacionado con la progresión de tumores benignos a malignos. De la revisión del rol de oncogenes y genes supresores en la patogénesis del cáncer y ejemplos de aplicaciones concretas, podemos ver la proyección clínica de esta información, en el diagnóstico precoz, decisiones terapéuticas y en el potencial desarrollo de nuevas terapias en cáncer.

Referencias

1. Vogelstein B, Kinzler K. *The Genetic Basis of Human Cancer*. McGrawHill, New York 1998; 656161.
2. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson J. *Cancer*, in: *Molecular Biology of the cell* 3th edition Gardland 1994; 1255694.
3. Knudson AG. *Hereditary predisposition to cancer*. Ann N Y Acad Sci 1997; 833: 58667.
4. Spencer KS, GrausóPorta D, Leng J, Hynes NE, Klemke RL. *ErbB2 is necessary for induction of carcinoma cell invasion by ErbB family receptor tyrosine kinases*. J Cell Biol 2000; 148: 385697.
5. Isola J, Chu L, DeVries S, Matsumura K, Chew K, Ljung BM, Waldman FM. *Genetic*

- alterations in ERBB2-amplified breast carcinomas.* *Clin Cancer Res* 1999; 5: 4140-5.
6. Baselga J, Mendelsohn J. *The epidermal growth factor receptor as a target for therapy in breast carcinoma.* *Breast Cancer Res Treat* 1994; 29: 127-38.
 7. Yang E, Korsmeyer SJ. *Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death.* *Blood* 1996; 88: 386-401.
 8. Sugiyama K, Shimizu M, Akiyama T, Taómaoki T, Yamaguchi K, Takahashi R, Eastman A, Akinaga S. *UCN-01 selectively enhances mitomycin C cytotoxicity in p53 defective cells which is mediated through S and/or G(2) checkpoint abrogation.* *Int J Cancer* 2000; 85: 703-69.
 9. López Guillermo A, Cabanillas F, McDonnell TI, McLaughlin P, Smith T, Pugh W, Hagemeyer F, Rodríguez MA, Romaguera JE, Younes A, Sarris AH, Preti HA, Lee MS. *Correlation of bcl-2 rearrangement with clinical characteristics and outcome in indolent follicular lymphoma.* *Blood* 1999; 93: 3081-7.
 10. Soubeyran P, Hostein I, Debled M, Eghbali H, Soubeyran I, Bonichon F, AstieróGin T, Hoerni B. *Evolution of BCL-2/IgH hybrid gene RNA expression during treatment of T(14;18)-bearing follicular lymphomas.* *Br J Cancer* 1999; 81: 860-9.
 11. Fearon ER, Vogelstein B. *A genetic model for colorectal tumorigenesis.* *Cell* 1990; 61: 759-67.
 12. Smith-Ravin J, England J, Talbot IC, Bodmer W. *Detection of c-Kiras mutations in faecal samples from sporadic colorectal cancer patients.* *Gut* 1995; 36: 816-6.
 13. Sidransky D, Tokino T, Hamilton SR, Kinzler KW, Levin B, Frost P, Vogelstein B. *Identification of ras oncogene mutations in the stool of patients with curable colorectal tumors.* *Science* 1992; 256: 1026-5.
 14. Umetani N, Sasaki S, Masaki T, Watanabe T, Matsuda K, Muto T. *Involvement of APC and Kíras mutation in non-polypoid colorectal tumorigenesis.* *Br J Cancer* 2000; 82: 961-5.
 15. Lewis JD, Deren JJ, Lichtenstein GR. *Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease.* *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28: 459-77.
 16. Hollstein M, Hergenhahn M, Yang Q, Bartsch H, Wang ZQ, Hainaut P. *New approaches to understanding p53 gene tumor mutation spectra.* *Mutat Res* 1999; 431: 199-209.
 17. Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E. *p53 gene mutations in gastric adenomas.* *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1993; 63: 191-65.
 18. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF Jr, Nelson CE, Kim DH, Kassel J, Gryka MA, Bischoff FZ, Tainsky MA et al. *Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms.* *Science* 1990; 250: 1233-8.
 19. Lohmann DR. *RB1 gene mutations in retinoblastoma.* *Hum Mutat* 1999; 14: 283-8.
 20. Cobrinik D, Dowdy SF, Hinds PW, Mittnacht S, Weinberg RA. *The retinoblastoma protein and the regulation of cell cycling.*

Trends Biochem Sci 1992; 17: 312–5.

21. Cryns VL, Thor A, Xu HJ, Hu SX, Wierman ME, Vickery AL Jr, Benedict WF, Arnold A. Loss of the retinoblastoma tumor-suppressor gene in parathyroid carcinoma. *N Engl J Med* 1994; 330: 757–61.
22. Mougin C, Humbey O, Gay C, Riethmuller D. Human papillomaviruses, cell cycle and cervical cancer. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2000; 29: 136–20.
23. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129–36.
24. Huibregtse JM, Beaudenon SL. Mechanism of HPV E6 proteins in cellular transformation. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 317–26.
25. Magnaghi-Jaulin L, Groisman R, Naguibneva I, Robin P, Lorain S, Le Villain JP, Troalen F, Trouche D, Harel-Bellan A. Retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature* 1998; 391: 601–5.
26. Song S, Liem A, Miller JA, Lambert PF. Human papillomavirus types 16 E6 and E7 contribute differently to carcinogenesis. *Virology* 2000; 267: 141–50.