



Bases moleculars del càncer

Àngel Pellicer

Departament de Patologia, New York University Medical Center, New York

Correspondència: pellia01@mcrcr.med.nyu.edu

El càncer és una malaltia que ha existit des de la prehistòria, però no ha adquirit una gran importància fins al segle xx perquè altres causes de mortalitat eren molt més aparents. Per exemple, la mortalitat infantil, les infeccions i moltes malalties que avui es curen amb intervencions quirúrgiques. A més, abans l'esperança de vida de la població era molt més curta i no ultrapassava normalment els 45 anys. Com que el càncer és preferentment una malaltia de la gent gran, no va representar un problema sanitari important fins al segle xx. La millora de les condicions de vida de la població en el món occidental ha portat a un allargament de la vida de la població per sobre dels 70 anys. Això es deu a una reducció significativa de la letalitat de la majoria de les infeccions bacterianes, al descobriment de l'asèpsia, l'anestèsia i les noves tècniques quirúrgiques. Tot això ha fet que avui en dia el càncer sigui la segona causa de mort al nostre ambient, només per darrera de les afeccions cardiovasculars.

Les primeres observacions científiques que van conduir a establir evidència epidemiològica del càncer van començar el segle XVIII. Sir Percivall Pott (1714-1788) es va adonar que els escura-xemeneies de Londres patien sovint de càncer escrotal, perquè era la regió del cos on se'ls acumulava el sutge durant el seu treball. Posteriorment es van fer altres correlacions semblants als treballadors de les indústries dels tints amb el càncer de bufeta i entre els miners de l'urani amb el càncer de

pulmó, encara que el mecanisme pel qual els agents predisposaven a aquests treballadors al càncer era totalment desconegut. A començaments del segle xx Peyton Rous (1879-1970) va experimentar i demostrar la transmissió del càncer a les gallines utilitzant extractes de tumors que havia passat per un filtre, el que li va permetre proposar la teoria viral del càncer. L'estudi dels virus oncògens va ser, i encara és, un dels camps que ha donat més gran rendiment per descobrir les bases moleculars del càncer. Tot i així, l'evidència epidemiològica a l'espècie humana indicava que, amb l'excepció d'alguns casos concrets, la majoria dels tumors humans no semblava que tinguessin una component contagiosa o infecciosa i per tant s'havia de seguir buscant els elements que contribuïen al desenvolupament del càncer humà.

Un dels primers elements va venir del camp de l'oncologia viral, perquè molts investigadors van continuar fent recerca amb els virus que produïen càncer en sistemes animals, on precisament s'havien aïllat aquests virus. Amb l'adveniment de la biologia molecular i el coneixement que les propietats biològiques eren codificades en el material genètic de les cèl·lules, els investigadors van treballar de valent per descobrir quins gens, en aquests virus d'animals, eren els causants de la transformació maligna. Es varen aïllar uns quants oncogens dels retrovirus d'animals però encara no s'entenia la connexió entre aquests gens i el càncer humà. El 1976 J. Michael Bishop i Harold E. Varmus van descobrir que els oncogens dels retrovirus animals eren en realitat còpies modificades de gens cel·lulars que els virus havien capturat per recombinació durant la infecció cel·lular. Això va obrir les portes a la moderna oncologia molecular, perquè si els gens, quan s'han modificat i integrat en un virus, poden ser oncogènics, també pot passar que els gens endògens es modifiquin a l'interior de la cèl·lula i predisposin la cèl·lula hoste a la transformació maligna. Per aquest descobriment Bishop i Varmus varen rebre el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina de 1989.

Etiologia del càncer

Un cop establert que l'aparició de càncer pot estar originada per les alteracions genètiques de la cèl·lula hoste, les causes del càncer comencen a ser més clarament enteses i reben un suport molecular. Així doncs, la important observació de Pott té ara una correlació molecular, és a dir, agents que causen alteracions genètiques poden predisposar al càncer. Els agents que poden produir

alteracions genètiques són anomenats mutàgens i ja a la segona meitat del segle XX es va demostrar que el sutge tenia gran quantitat de substàncies mutagèniques, donant-li la raó a Pott. Per tant, podem considerar com establert que els agents mutagènics seran l'origen de la majoria dels càncers. Quins agents podem incloure en aquest grup? Normalment es divideixen en exògens i endògens; els endògens són aquells que estan relacionats amb la disfunció de gens cel·lulars que intervenen en el manteniment de la integritat del genoma i els tractarem més endavant, a la secció de la patogènia del càncer.

Els agents exògens es poden dividir en: físics, químics i biològics. Entre els físics cal diferenciar els naturals i els artificials. Entre els primers s'hauran d'incloure les radiacions còsmiques, que afecten més les poblacions que viuen a grans altituds, en disminuir la capa protectora de l'atmosfera. Això ha fet que es consideri un risc laboral el pertànyer a tripulacions d'avions en rutes transatlàntiques. Entre els artificials, hi ha les radiacions derivades de la indústria nuclear o de l'exposició iatrogènica durant protocols diagnòstics o terapèutics. Entre els agents químics, podem diferenciar-ne també de naturals i d'artificials. Dels naturals, hi ha algunes substàncies que es troben en quantitats molt petites a les plantes solanàcies, als bolets o a la xocolata. També podríem incloure-hi els agents que es formen durant el rostit de la carn i altres aliments. Entre els artificials, hi ha una llarga llista de compostos que es produeixen a les síntesis químiques industrials com són les amines nitrogenades, la dioxina o el clorur de polivinil (PVC). Cal destacar que, per correlacionar la possible activitat mutagènica dels diferents compostos, és important conèixer la seva fórmula química perquè es poden diagnosticar com mutagènics els que continguin radicals nucleòfils que tenen la capacitat de reaccionar amb el DNA. Amb tot, i com a complicació afegida, hi ha compostos que no serien mutagènics si es considera només aquesta propietat química, però que sí que ho són quan es proven en animals d'experimentació. Això és degut, al menys en part, al fet que hi ha molècules químiques que són inertes per si mateixes, però que esdevenen mutagèniques quan s'activen en metabolitzar-se a l'interior de l'organisme. Aquesta és una de les raons per les quals s'han de fer els assajos en animals per assegurar-se que una substància no és carcinogènica.

L'altre grup d'agents carcinogènics és el dels agents biològics. És aquí on es poden agermanar les dues teories, aparentment contraposades, sobre l'origen del càncer: la viral i la genètica. És a dir, els virus poden alterar la dotació genètica de la cèl·lula hoste, bé introduint-hi informació nova o bé alterant, amb la seva presència, la pròpia cèl·lula. Els dos

mecanismes s'han pogut comprovar amb estudis experimentals i també en càncer humà. El primer mecanisme és el més freqüent; per exemple, és el cas del virus del papiloma que introdueix dos gens, *E6* i *E7*, que inactiven els dos controladors del cicle cel·lular (p53 i Rb), la qual cosa predispesa al càncer de cèrvix. Un altre exemple és el retrovirus que produeix la leucèmia T de l'adult, que codifica gens que actuen com a factors de transcripció que alteren la fisiologia cel·lular. Un exemple del segon cas seria el virus de l'hepatitis B. Fins ara no se li ha trobat cap oncògen, però se suposa que produeix la predisposició al càncer hepàtic per la constant mort cel·lular que provoca. Aquesta mort mantinguda crònicament i la subsegüent regeneració produeixen un nivell molt alt de divisió cel·lular i predispesa a l'acumulació d'errades genètiques.

Així doncs, després d'aquesta exposició podem dir que coneixem l'etiologia o causes del càncer, atès que els agents que poden produir alteracions genètiques són possibles causes de càncer. Per tant, una bona norma de conducta serà evitar l'exposició a aquests agents, si els coneixem. Sempre és possible que estiguem exposats a agents que encara no han estat analitzats o que la seva composició no es coneix; hauríem d'evitar, però, els que estan clarament establerts com a carcinogènics. L'exemple més trist que aquesta recomanació no es compleix és el cas molt conegut però que encara no ha tingut l'impacte necessari: el tabac. Es calcula que als EUA, si tothom deixés de fumar, la mortalitat baixaria en 250.000 persones cada any. El tabac conté una gran quantitat de substàncies mutagèniques que encara augmenten el seu poder carcinogènic quan es cremen i a les quals cal afegir les del paper. A més del càncer de pulmó, també estan lligats directament al tabac, els de l'orofaringe, vies respiratòries altes, esòfag, pàncrees i bufeta a causa de l'absorció, pas a la sang i transport a altres òrgans de les substàncies carcinogèniques que conté.

Un altre punt que s'hauria d'analitzar és si, per a desenvolupar càncer, és suficient amb l'aparició d'una única alteració genètica específica de cada tumor. Els estudis epidemiològics complementats per les observacions al laboratori indiquen que per produir-se un tumor sòlid (qualsevol menys les leucèmies) en els humans es requereixen de 5 a 7 alteracions genètiques a la cèl·lula que es transforma i dona origen al tumor. Això és molt important perquè vol dir que les cèl·lules han desenvolupat mecanismes de defensa per impedir que una sola alteració genètica les condemni al desenvolupament tumoral. Un corol·lari que s'extrau d'aquesta evidència és que el càncer requereix l'acumulació de diverses alteracions genètiques i lògicament tindrà una fase de latència important. És així com

s'explica que el càncer predomini en gent gran, perquè els anys han permès l'acumulació de les alteracions genètiques necessàries per a l'establiment del tumor, i perquè hagi crescut suficientment per donar símptomes.

Podem dir aleshores que tots els tipus de càncer es produeixen per agents externs que alteren el nostre DNA? No es pot afirmar això de manera rotunda. De fet, la clínica demostra que hi ha famílies que mostren molta predisposició a desenvolupar càncer i per tant deu haver-hi causes internes que intervenen en el procés. En aquest grup podríem incloure també la majoria dels càncers que es desenvolupen en criatures i adolescents, perquè una possible explicació és que hagin nascut amb alguna alteració genètica (heretada o congènita) que els hagi portat a un procés accelerat pel camí de la progressió tumoral. Això s'abordarà també al següent apartat, on tractem de la patogènia del càncer.

Patogènia del càncer

Durant els darrers vint anys, on s'ha avançat de manera més significativa és en la patogènia del càncer, és a dir, descobrint els mecanismes moleculars pels quals una cèl·lula normal es transforma en cancerosa. Si el coneixement de l'etiologia del càncer ens indica el camí per a la prevenció de la malaltia, que és evitar-ne les causes, com hem explicat abans, el coneixement dels mecanismes moleculars ens pot portar a millorar-ne el tractament. Ens pot servir per a ajudar la població que ja ha desenvolupat càncer, ens pot també proporcionar marcadors tumorals que permetin un diagnòstic precoç, una millor classificació dels tumors, un pronòstic més precís i una terapèutica dirigida específicament a contrarestar els efectes de les alteracions que presenti la cèl·lula cancerosa. Com hem esmentat abans, les alteracions de la cèl·lula cancerosa són principalment i en el seu origen, genètiques.

Agruparem les alteracions genètiques que s'han anat descobrint en aquests darrers vint anys en diferents apartats segons els gens que exerceixen el seu efecte a diferents aspectes de les funcions cel·lulars i tissulars per acabar induint el desenvolupament del tumor. Són els següents: *a)* oncogens, *b)* gens supressors de tumors, *c)* gens de la reparació, *d)* gens involucrats en l'apoptosi, *e)* telomerasa, *f)* angiogènesi i *g)* la vigilància immunitària.

Oncogens. Aquest grup de gens va ser el primer que es va descobrir i on es van aïllar els primers gens relacionats amb el càncer. Com hem dit

abans, primer es van estudiar els d'origen viral i al llarg dels darrers vint anys s'han anat estudiant els gens propis de la cèl·lula, que són els que més freqüentment estan involucrats en el càncer humà. La definició d'un oncògen és una mica operativa, perquè pot incloure aquells gens que són capaços d'activar la proliferació cel·lular d'una manera positiva. Des del punt de vista genètic, són dominants, és a dir, que als assajos en què s'utilitzen *in vitro*, la presència d'un sol al·lel és teòricament suficient per predisposar la cèl·lula hoste a la transformació maligna. Les funcions biològiques que tenen aquests gens són molt variades i d'una manera general se les agrupa al voltant de les rutes de transducció de senyal. Així, s'han descrit oncogens que són factors de creixement com el factor de creixement derivat de les plaquetes (PDGF *platelet-derived growth factor*), el factor de creixement epidèrmic (EGF, *epidermal growth factor*) o el factor de creixement fibroblàstic (FGF, *fibroblastic growth factor*); receptors per a factors de creixement com el receptor del factor de creixement epidèrmic (EGFR), el receptor del factor de creixement epidèrmic humà (HER2) o el receptor de la tirosina-cinasa (Trk); molècules adaptadores com Shc; activadors de guanosina trifosfatases (GTP) com Rgr; mediadors de la transducció de senyal com Ras; tirosina cinases que no són receptors com Src i Abl; cinases citoplàsmiques com Raf; i molts factors de transcripció com Elk, Fos, Jun, Myc o Myb.

Els abordatges experimentals que han permès l'aïllament d'oncogens són variats: a) Derivats de retrovirus, que indueixen tumors de manera ràpida, perquè, com s'ha esmentat abans, els retrovirus són susceptibles d'obtenir nous gens per recombinació quan infecten una cèl·lula i si aquests gens són proto-oncogens els virus resultants són detectats i amplificats en infectar un animal i produir un tumor. b) Per transfecció: aquest mètode experimental, que va ser molt popular en la dècada de 1980, utilitza DNA d'un tumor i l'introdueix per diferents mètodes (el més efectiu és la precipitació amb fosfat càlcic) en cèl·lules indicadores (les més utilitzades són les NIH3T3). Si el DNA conté un oncògen que és capaç de transformar les cèl·lules indicadores, les cèl·lules que hagin incorporat l'oncògen començaran a créixer a un ritme més intens que les veïnes. En perdre la inhibició per contacte que tenen les cèl·lules normals, creixen de manera anàrquica, unes damunt de les altres, formant el que s'anomena un focus de transformació, que és detectable en unes dues setmanes. Aquest assaig permet, a més de determinar si un tumor conté oncogens, fer créixer les cèl·lules transformades i repetir el procés fins que s'hagin enriquit suficientment les seqüències oncogèniques per poder clonar-les si es

tracta de gens d'una espècie diferent a la de les cèl·lules indicadores. Quan els gens detectats per aquest abordatge són aïllats, es troba molt sovint que el procés d'activació oncogènica ha produït mutacions puntuals (aquest és el cas dels gens Ras) o delecions de seqüències reguladores de la molècula. c) Els gens que es troben de manera recurrent en translocacions cromosòmiques específiques d'una determinada neoplàsia. Això ha estat més estudiat a les leucèmies i als limfomes, on l'anàlisi citogenètica va permetre fa uns trenta anys la descripció del cromosoma Filadèlfia, que és un cromosoma que s'ha format amb un fragment del cromosoma 9 i un altre del cromosoma 22. Aquest reordenament cromosòmic produeix la juxtaposició de dos gens que eren a diferents cromosomes, com són *Abl* i *Bcr*. En aquest cas es produeix una proteïna de fusió *bcr-abl* que no existia a les cèl·lules normals. La funció anòmla d'aquesta proteïna nova desencadena el procés d'oncogènesi. Un altre exemple molt conegut és el de la translocació al limfoma de Burkitt, en la qual freqüentment existeix una translocació del cromosoma 8 al cromosoma 15. Això juxtaposa el gen *c-myc* amb els gens de les immunoglobulines. En aquesta situació, la proteïna que es produeix és la proteïna *c-myc* normal, però, en estar ara regulada la seva expressió d'una manera anormal a les cèl·lules B, fa que el gen *c-myc* sigui oncogènic. Una situació semblant amb altres oncogens s'ha anat descobrint a una gran quantitat de les neoplàsies hematopoètiques. Ha estat possible aïllar-ne els oncogens involucrats utilitzant sondes dels gens de les immunoglobulines (als casos de limfomes B) o dels receptors de cèl·lules T (a les leucèmies o limfomes de cèl·lules T). d) Amplificació: s'havia fet l'observació que en alguns tumors hi havia alteracions citogenètiques compatibles amb un augment del material genètic i es va pensar que podia resultar de l'amplificació d'alguns gens específics. Això es va comprovar a diversos malalts de neuroblastoma en què es podia observar amplificació del gen *N-myc*. També és molt important el cas de càncers de mama on una proporció d'ells presenten una amplificació del gen *HER2*. Als dos casos, neuroblastoma i càncer de mama, l'amplificació d'aquests oncogens es correlaciona amb un pitjor pronòstic per als malalts.

Gens supressors de tumors (GST). L'existència d'aquests gens havia estat postulada abans del seu descobriment experimental després de diverses observacions que no es podien explicar si els oncogens fossin els únics causants de la transformació maligna. A començaments de la dècada de 1970, Knudson va fer un tractament matemàtic de la incidència del tumor infantil retinoblastoma. Va arribar a la conclusió que les corbes d'in-

cidència obtingudes en relació al temps es corresponien amb un pendent de primer ordre en el cas dels pacients amb un component hereditari, mentre que tenien un pendent de segon ordre als retinoblastomes esporàdics (sense component familiar). Knudson va postular que això es podia explicar si els pacients amb el component hereditari ja heretaven una alteració i els esporàdics necessitaven dues alteracions que, a més, havien d'estar en els dos al·lels del mateix gen.

Una observació del laboratori era també contrària a la hipòtesi de l'oncògen dominant com a única causa per explicar el càncer. Aquesta observació indicava que, quan es fusionaven dues cèl·lules per mètodes experimentals, una normal i l'altra maligna, el producte de la fusió, en lloc de tenir les propietats malignes, s'assemblava més a la cèl·lula normal. Això suggeria que la cèl·lula normal estava contribuint a la fusió de quelcom que mancava a la cèl·lula maligna. Una altra observació derivada de la citogenètica indicava que hi havia un percentatge significatiu de tumors en què es detectaven alteracions citogènètiques a les mateixes regions i cromosomes homòlegs, com si l'alteració dels dos al·lels del mateix gen facilités el desenvolupament tumoral.

No va ser fins a la segona meitat de la dècada de 1980 quan es va aconseguir aïllar el gen alterat al retinoblastoma (*Rb*) i efectivament es va comprovar que els postulats de Knudson es complien. En els tumors, els dos al·lels estaven alterats i els pacients amb predisposició hereditària havien heretat una d'aquestes alteracions; per tant, la tenien a totes les cèl·lules de l'organisme. Aquest paradigma defineix els gens supressors de tumors com a gens que estan encarregats de regular els processos de proliferació. D'aquesta manera no permeten que la cèl·lula continuï la seva marxa cap a la replicació del DNA i la seva divisió si no li arriben els senyals adients o si es detecten alteracions que no fan aconsellable continuar la proliferació. Des del punt de vista genètic, aquests gens són recessius, perquè la presència d'un al·lel normal és capaç de mantenir els processos normals de la cèl·lula. Igualment, és molt important tenir clar el concepte que, encara que els gens supressors de tumors siguin recessius a nivell cel·lular, com s'ha explicat abans, a nivell de tot l'organisme estan freqüentment involucrats en malalties dominants, com és el cas del retinoblastoma hereditari descrit anteriorment. L'explicació d'això és que, encara que per a cada cèl·lula la transformació maligna és un fet recessiu que requereix l'alteració dels dos al·lels, si s'ha heretat una còpia del gen ja alterada, totes les cèl·lules tenen ja aquesta alteració. Per tant, la probabilitat acumulada que es doni la segona alteració a alguna cèl·lula és molt gran, produint síndromes clíniques que cursen amb herència dominant.

La manera de detectar gens supressors de tumors en algun tipus específic de neoplàsia, quan no es té cap informació citogenètica que permeti intuir els gens candidats, requereix un gran esforç i consisteix a construir el que s'anomena un al·lelotip d'aquest tumor. Per això es necessiten sondes marcadores a tot el llarg del genoma. Aquestes sondes han de ser, a més, informatives, el que vol dir, en termes genètics, que quan es visualitzen al teixit normal (per exemple mitjançant transferència Southern [Southern Blot], amb un enzim determinat o mitjançant la reacció en cadena de la polimerasa [PCR]) es pot distingir l'al·lel patern del matern. A més, s'ha de comptar amb una sèrie de mostres de tumors i teixits dels mateixos pacients per poder comparar-les. Si s'aprecia que, a un mateix tipus de tumor, algun d'aquests marcadors perd un dels dos al·lells quan es compara amb el teixit normal, és un indicatiu que a aquesta regió del genoma pot haver-hi un gen supressor de tumor (GST).

La raó per la qual s'ha arribat empíricament a aquesta conclusió és perquè s'ha vist que sovint el que succeeix al procés d'inactivació d'un GST és que un al·lel s'inactiva d'una manera subtil, per mutació puntual o àdhuc per metilació del seu promotor, mentre que l'altre es delecta. Moltes vegades aquesta delectió és total i s'emporta regions cromosòmiques adjacents. Això és el que es coneix com a fenomen de pèrdua d'heterocigositat (LOH, *loss of heterozygosity*). Així doncs, quan es detecta pèrdua d'heterocigositat a una regió del genoma en algun tipus de tumor, el següent pas és cercar GST ja descoberts a aquesta regió que puguin ser candidats d'haver estat inactivats. Després s'ha de comprovar si és aquest el cas amb una sèrie nombrosa de tumors d'aquest mateix tipus. Si al voltant no hi ha cap GST conegut, es pot, partint de la sonda que va detectar la LOH, anar clonant regions del genoma fins arribar al GST que s'estava buscant. Aquest clonatge és molt dificultós i requereix molts mitjans de treball i paciència; se l'anomena clonatge posicional.

A més del gen del retinoblastoma, s'han identificat a la darrera dècada altres GST. Un dels més coneguts és el que codifica la p53, que té una funció de guàrdia del genoma perquè actua quan es produeixen alteracions al genoma. És a dir, quan la cèl·lula s'adona que s'han acumulat mutacions, la p53 atura el cicle cel·lular per tal que la cèl·lula pugui reparar les alteracions abans de la replicació del DNA. Si li sembla que el mal és tan fort que serà impossible fer la reparació, aleshores la p53 posa en marxa el procés de mort cel·lular programada o apoptosi de què parlarem més endavant. Per tant, és fàcil de comprendre que la inactivació de la p53 té conseqüències molt greus per a la integritat del genoma cel·lular i que pot

ser el desencadenant del procés oncogènic. Altres molècules que s'han descrit com a GST són reguladores del cicle cel·lular com ara p16, p19ARF o p27. Altres GST que han estat aïllats i estudiats són NF1 i NF2, el gen del tumor de Wilms, el de la malaltia de Von Hippel-Landau i el causant de la síndrome de les neoplàsies endocrines múltiples tipus 1.

Gens de la reparació. A l'apartat anterior, en parlar de la p53 ja s'ha fet menció indirectament del paper que pot tenir la reparació del DNA. Així doncs, encara que la p53 estigui intacta i aturi la cèl·lula a la fase G1 del cicle cel·lular, per tal que es puguin reparar les alteracions genètiques, aquestes es poden acumular si les molècules encarregades directament de la reparació no funcionen bé. El primer cas de gen de la reparació lligat al desenvolupament del càncer es va descriure fa uns trenta anys quan es va veure que, als malalts de xeroderma pigmentosum (que desenvolupaven múltiples tumors cutanis), els mancava una de les activitats de la reparació del DNA. Posteriorment es van aïllar diversos gens involucrats en la reparació per escissió i que quan es trobaven alterats hereditàriament desencadenaven la mateixa malaltia. En aquests casos es tracta d'una malaltia de presentació recessiva en persones que han heretat els dos al·lels inactivats per un d'aquests enzims.

L'any 1993 una observació de Manuel Perucho va obrir la porta per a la implantació d'altres gens de la reparació en el món de la recerca del càncer. Comparant els resultats d'amplificar DNA tumoral i normal dels mateixos pacients amb iniciadors arbitraris, Perucho va descobrir que alguns tipus de càncer de còlon contien milers de mutacions i a això ho va denominar fenotip mutador. Les mutacions consistien en addicions o delecions d'una o unes poques bases a fileres d'As o Gs o també en repeticions de dinucleòtids coneguts com a microsatèl·lits. Aquest particular tipus de mutació i el gran nombre d'elles acumulades a certs tumors suggeria que gens que s'encarreguen de reparar les bases (*mismatch*) eren els causants del procés. Aquests gens es van aïllar i es va comprovar que, efectivament, al voltant del 12 al 15% dels càncers de còlon contien mutacions en aquest grup de gens (MLH1, MSH2, MSH6, etc.). L'explicació és la següent: quan els dos al·lels d'algun d'aquests gens s'inactiven (per un mecanisme similar al dels GST) la cèl·lula comença a acumular mutacions a l'atzar a les seqüències de microsatèl·lits. Com que la majoria són a regions del genoma que no codifiquen cap gen, aquestes alteracions sovint no tenen conseqüències, però en alguns casos afecten seqüències que són dins de la regió codificant de gens que intervenen en el control de la pro-

liferació cel·lular. Aquest és el cas del receptor del TGF beta, bax, beta-catenina i altres. És l'afectació d'aquests gens el que porta a la transformació maligna. Així doncs, es tracta d'un mecanisme genètic semblant al dels GST, però amb un efecte més retardat, perquè primer s'han d'afectar els dos al·lels del gen de la reparació i després hi ha d'haver el temps suficient perquè, entre les mutacions acumulades, alguna es trobi a gens importants per al desenvolupament tumoral. Des del punt de vista molecular, és important destacar que en aquests casos el tipus de gens que s'alteren són fonamentalment aquells que contenen les seqüències de microsatèl·lits a les seves regions codificants. Així doncs, quan s'estudien les alteracions genètiques acumulades que als tumors de còlon té el fenotip mutador, es troba que són diferents de les mutacions que es detecten als tumors de còlon de la via clàssica o esporàdics en els quals no s'han acumulat milers de mutacions. Al tipus esporàdic, es detecten mutacions molt freqüents en els gens K-ras i p53 que no s'observen en els tumors del fenotip mutador. Això té una repercussió clínica important perquè, en tenir unes alteracions genètiques diferents, el seu comportament biològic també és diferent, havent-se observat que els tumors de fenotip mutador tenen una evolució més benigna i un millor pronòstic.

Un altre punt que s'ha fet evident en aquest sistema és la diferència molecular entre tumors esporàdics i hereditaris. Quan es va analitzar l'història dels malalts amb el fenotip mutador es va descobrir que un alt percentatge tenia antecedents familiars del mateix tipus de tumor (còlon) o d'alguns altres (estómac, endometri, ovari); és la síndrome que s'ha anomenat HNPCC, de l'anglès per carcinoma de còlon hereditari sense pòlips. En aquests casos s'hereta un al·lel alterat i l'altre s'inactiva somàticament, predisposant la cèl·lula amb els dos al·lels alterats a la seva transformació maligna quan acumula alteracions a gens crítics. De moment no se sap perquè aquests tumors només apareixen a un grup d'òrgans específics. També es pot presentar un tumor amb fenotip mutador a un malalt sense antecedents familiars. El que sol passar en aquests casos és que s'han acumulat alteracions als dos al·lels del mateix gen de la reparació d'una manera somàtica.

Apoptosi. Durant la dècada de 1980 es van descobrir molts gens amb propietats oncogèniques. Un d'ells es trobava associat a una translocació que és freqüent als limfomes fol·liculars. Quan es va clonar el gen associat a la translocació se'l va anomenar *bcl-2*, perquè era el segon dels gens aïllats a translocacions de limfomes de cèl·lules B. Aquest gen predisposa les

cèl·lules que el tenen activat a la transformació maligna per un mecanisme diferent que ha pres gran importància als darrers anys: la manca d'apoptosi. Els limfòcits i les cèl·lules en general tenen un cicle vital que les porta a la mort després que han complert la seva funció. En el cas de *bcl-2*, sembla ser que, allargar la vida dels limfòcits, d'una manera artificial i més enllà del que els correspon, els permet acumular mutacions addicionals que finalment desemboquen a la transformació maligna. El procés d'apoptosi es pot desencadenar per una gran quantitat de senyals interns o externs a la cèl·lula. Entre els senyals externs hi ha la manca dels factors de creixement adients per mantenir la cèl·lula complint la seva funció normal o també per l'estimulació del receptor Fas o del factor de necrosi tumoral (TNF). Entre els senyals interns hi ha els que provenen de la detecció d'alteracions genètiques. El mecanisme involucra l'activació d'una sèrie de proteases (caspases) que són les encarregades d'executar el programa, degradant les estructures citoplàsmiques i nuclears. Aquest procés està regulat molt acuradament, i els membres de la família gènica de *bcl-2* hi tenen un paper important dimeritzant-se i permetent que el procés continuï o es pari. Així doncs, hi ha membres de la família que són proapoptòtics, com *bax*, i altres que són antiapoptòtics com *bcl-2*. S'ha demostrat en diferents tipus de tumors que la inactivació dels gens proapoptòtics (*bax* als càncers de fenotip mutador) o activació excessiva dels antiapoptòtics (*bcl-2* a limfomes) pot predisposar la cèl·lula a la transformació maligna. Això és perquè s'impedeix que la cèl·lula mori en el moment que li corresponia i, a més, permet que es perpetui i divideixi després d'acumular mutacions molt perilloses.

Telomerasa. Els telòmers són estructures que es troben als extrems dels cromosomes i s'encarreguen d'evitar que els cromosomes s'uneixin uns amb altres pels extrems, el que provocaria aberracions cromosòmiques molt greus que portarien a la mort cel·lular o al càncer. L'observació experimental que va iniciar aquest camp de recerca va ser el descobriment que les cèl·lules en cultiu quan entraven en senescència tenien els telòmers molt curts. El manteniment d'aquestes estructures recolza en un enzim anomenat telomerasa, que conté una subunitat proteica i una altra d'RNA. Aquest RNA serveix com a motlle per a la síntesi de les seqüències telomèriques que són polimeritzades per l'activitat transcriptasa inversa que té la subunitat proteica. Els teixits normals que estan en repòs sense activitat telomerasa i aquells que estan dividint-se tenen una certa activitat, però baixa en comparació amb les cèl·lules soca i germinals, que han

de tenir la capacitat de poder dividir-se d'una manera il·limitada. En molts tipus de càncer hi ha un augment significatiu de l'activitat telomerasa i a això s'atribueix el que les cèl·lules tumorals mantinguin els telòmers i no entrin en senescència. Experiments *in vitro* han demostrat que es pot transformar una cèl·lula primària humana amb el concurs de l'antigen T del virus SV40 (que inactiva Rb i p53), l'oncogèn *Ras* i la telomerasa. Aquests experiments han conduït a postular que l'activació de la telomerasa és un factor crucial de la patogènia tumoral, perquè, si no es mantenen els telòmers, la cèl·lula acabarà morint malgrat que tingui oncogens i GST alterats. Aquesta hipòtesi afegeix un nou ingredient important als grups de gens que contribueixen al procés tumoral.

Angiogènesi. Un altre aspecte que ha anat prenent importància a les dues últimes dècades és el paper que pot tenir l'angiogènesi en el desenvolupament tumoral. Aquest concepte és prou intuïtiu, perquè es deriva de la hipòtesi que, quan els tumors sòlids creixen, les cèl·lules al centre del tumor van quedant anòxiques si no reben la suficient quantitat de sang i poden arribar a morir. A més, s'ha vist que a molts tumors hi ha neoformació vascular. Per abordar això des del punt de vista molecular s'ha anat investigant quins són els factors responsables d'aquesta neoformació vascular. D'entre els més importants hi ha els factors de creixement de l'endoteli vascular (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) i també les angiopoetines. Més recentment s'ha descobert l'HIF-1, que és un factor de transcripció que respon a l'anòxia i per tant s'encarrega de començar el programa d'expressió gènica que donarà lloc a la resposta de neoformació vascular. Tots aquests factors i els seus receptors són dianes terapèutiques potencials i són per tant un objectiu prioritari de la indústria farmacèutica.

Vigilància immunitària. En els pacients que tenen el sistema immunitari deprimat, com és el cas dels malalts de sida o en els que de manera iatrogènica s'ha deprimat aquest sistema per evitar el rebuig després del trasplantament d'un òrgan, s'ha observat que es presenta una freqüència augmentada d'alguns tipus de tumors com ara els limfomes. Això s'ha atribuït al fet que el sistema immunitari té com a missió detectar i destruir els organismes estranys. Les cèl·lules tumorals, amb les seves alteracions, serien doncs part dels seus objectius. A partir d'aquesta hipòtesi, l'inici del procés tumoral podria ser un esdeveniment relativament freqüent però el sistema immunitari s'encarregaria d'eliminar la majoria d'aquests tumors al començament i abans que es poguessin desen-

volupar suficientment per manifestar símptomes. En aquest apartat, els gens que hi intervindrien serien els de reconeixement i destrucció de les cèl·lules tumorals. Aquests gens podrien també ser susceptibles de ser inactivats per mutacions i, per tant, contribuir al desenvolupament tumoral.

Epíleg

Es pot dir que durant els darrers vint anys s'ha avançat considerablement la dissecció dels mecanismes moleculars del càncer. L'aprofitament de tots aquests coneixements proporcionats per la recerca bàsica per a dissenyar estratègies terapèutiques racionals és el repte per als propers vint anys. Tanmateix, es pot dir que si els avenços van a la mateixa velocitat que als darrers vint anys, cal ser optimista quant al desenllaç. La gran quantitat d'informació que s'ha anat obtenint suggereix que hi ha moltes dianes terapèutiques que poden ser aprofitades per atacar el desenvolupament tumoral en un futur proper.

Bibliografia

- Hesketh R (1997) The oncogene and tumor suppressor gene facts book. Academic Press, San Diego, CA
- Leon J, Pellicer A (1993) *Ras* genes involvement in carcinogenesis: Lessons from animal model systems. A: The ras superfamily of GTPases. Lacal JC, McCormick F (eds), CRC Press, Boca Raton, FL, pp 3-36
- Mu J, Wei LX (2002) Telomere and telomerase in oncology. Cell Res 12:1-7