

Resumen realizado por: Mauricio Lema
Nombre del profesor: Miguel Lafarga
Título del curso: Máster en Oncología Molecular - CNIO: 2012-2014
Fecha: 22.09.2012

EL PROCESO DE CARCINOGENÉISIS: CÉLULAS NORMALES VS TUMORALES

Resumen (por el expositor)

“El cáncer es una enfermedad de los genes que modifica la conducta de las células y altera profundamente la organización y regulación de las células en los tejidos.

Las propiedades fundamentales de las células tumorales son las siguientes: autosuficiencia de factores de crecimiento, resistencia a las señales inhibitoras del crecimiento, invasividad, potencialidad ilimitada para la proliferación, inducción de la angiogénesis y resistencia a la apoptosis.

Las mutaciones de las células tumorales afectan al control de ciclo celular, especialmente a la transición G1/S y conducen a un crecimiento celular desordenado.

Las células tumorales presentan alteraciones en el programa de diferenciación con pérdida del fenotipo diferenciado (desdiferenciación).

El mantenimiento del estado desdiferenciado requiere una elevada tasa de síntesis de RNA y proteínas para mantener la capacidad proliferativa. A nivel celular, esto se traduce en un predominio de polirribosomas libres, aumento del número de nucléolos y cambios epigenéticos en la configuración de la cromatina.

En los carcinomas, la desdiferenciación también se acompaña de pérdida de la polaridad celular y de adhesividad (célula-célula y célula-matriz extracelular). Estos procesos conducen a alteraciones del polo apical (microvellosidades, cilios) y de las uniones intercelulares (estrechas, adherente y comunicantes), así como a un incremento de la movilidad celular (invasividad).

Durante la progresión tumoral frecuentemente se producen alteraciones numéricas (aneuploidía) y/o estructurales de los cromosomas que ocasionan gran inestabilidad cromosómica.

Los mecanismos más importantes que generan inestabilidad cromosómica en las células tumorales son los siguientes: acortamiento de los telómeros, translocaciones y deleciones de los cromosomas, alteraciones del ciclo centriolar con amplificación de los centrosomas (mitosis multiplares) y disfunción del punto de control de la mitosis”.

Índice

*Propiedades de las células tumorales malignas
Disfunción del ciclo celular, particularmente de la transición G1-S
Alteraciones en la diferenciación celular: el estado desdiferenciado
Alteración de la polaridad y adhesión celular
Inestabilidad cromosómica*

Propiedades de las células tumorales maligna

El cáncer es una enfermedad de los genes que altera la conducta celular y la organización tumoral. Las propiedades esenciales de las células tumorales han sido descritas por Hanahan y Weinberg en the Hallmarks of cancer (autosuficiencia de factores de crecimiento, resistencia a las señales inhibitoras del crecimiento, invasividad, potencialidad ilimitada para la proliferación, inducción de la angiogénesis y resistencia a la apoptosis). En la clase se resaltan los siguientes:

1. Desregulación del ciclo celular: independiente de las señales de crecimiento (sistema retinoblastoma – ver abajo);
2. Propiedad invasiva: alteración en polaridad, adhesión celular (E-cadherina), alteración en las beta integrinas, generación de metaloproteasas.
3. Inestabilidad genómica: inicialmente con cambios en genes, que progresan a inestabilidad cromosómica, incluyendo inmortalización por la expresión de la telomerasa, entre otros.

Exp

Fibroblastos forman monocapa

Fibroblastos transformados por el virus del sarcoma de Rous: no inhibición de contacto, pilas de células, prolongaciones de membrana con capacidad migratoria.

Disfunción del ciclo celular

Generalidades del ciclo celular

En el G1 hay diferenciación y crecimiento celular. Para proceder a la fase S debe tener una masa crítica. Si las condiciones son adecuadas en el punto Restricción (al final de la fase G1) se procede a la fase S que dura 4-8 horas donde se forma las dos copias de DNA y las histonas.

En el período G2, o de preparación para la mitosis, las dos cromátides humanas están unidas por anillos de cohesinas. Al final del período G2 hay una validación de la duplicación de los cromosomas e integridad del genoma. Si todo está bien, pasa a la Mitosis.

La Mitosis (que dura una hora) es caracterizada por segregación de los cromosomas duplicados en las células hijas. Hay un sistema de control muy importante entre metafase y anafase en donde se establece que hay alineación de los cromosomas y la unión de los centrómeros por los kinetocoros.

Regulación del ciclo celular – Ciclinas y kinasas dependientes de ciclinas (cdk)

El ciclo celular están controlados por varias enzimas denominadas ciclinas y CDKs. En la fase de transición G1-S es importante la Ciclina D con las cdk4 y cdk6. En la fase de transición S-G2 es controlada por la Ciclina E con la cdk2. En la entrada a mitosis también hay una cdk junto con la ciclina A y la ciclina B. La ciclina B es la encargada de la transición Metafase Anafase junto con la cdk1.

Alteraciones en la fase G1/S en cáncer

Muchos de los oncogenes operan en la transición G1-S en donde opera el sistema Retinoblastoma (Rb). En las células no proliferantes la proteína Rb se une al factor de transcripción E2F impidiendo su función en la transcripción de genes. Cuando la célula es proliferante el represor p16 libera la Cdk4 con la Ciclina D y fosforila al Rb, inactivándola. El E2F es liberado y se transcriben los genes necesarios para la transición a la fase S (los genes Rb y p16 son TSG y las Ciclinas D y la cdk4 son oncogenes).

Exp

La fase S la podemos analizar utilizando un precursor del ciclo celular utilizando la BrdU. La eucromatina se replica primero, y la heterocromatina se replica después (se ve como un círculo de BrdU alrededor del núcleo). Se forman múltiples burbujas de replicación que aceleran el proceso de replicación. Algunas burbujas de replicación son más grandes o pequeñas. De igual manera se van formando los nucleosomas a medida que se va duplicando el DNA.

Exp

En cultivos celulares dinámicos se pueden utilizar proteínas marcadas cdt1 que es del final de la replicación y la Geminina en la fase S y G1.

Exp

Las células cancerosas expresan niveles elevados de componentes del complejo de replicación. En condiciones normales la expresión de la Mcm5 (una helicasa) se expresa en el epitelio basal del cérvix uterino. En el cáncer de cérvix uterino, se observa marcación de la Mcm5 en todo el espesor tumoral. Hay un desorden en la replicación como aspecto esencial.

Alteraciones en la diferenciación celular: estado desdiferenciado

Alteraciones en retículo endoplásmico

Las células tumorales pierden la diferenciación (en cierto sentido se parecen a las células embrionarias). En el estado desdiferenciado se produce reducción de las cisternas del REG y aumento de polirribosomas libres encargados de la síntesis de las enzimas de la glicólisis, así como de la maquinaria enzimática requerida para la proliferación celular.

Aumento del número de nucléolos

Otro criterio de dediferenciación es la presencia de múltiples nucléolos que se produce por la **inactivación** del mecanismo de fusión nucleolar que normalmente ocurre en la fase G1 inicial. Se incrementa la biogénesis de ribosomas, un proceso esencial para la proliferación y crecimiento de la célula tumoral. Las proteínas Rb y p53 (frecuentemente mutadas en las neoplasias humanas) son reguladores negativos de la transcripción de la RNA pol I.

Polimorfismo nuclear

Las células tumorales frecuentemente muestran polimorfismo nuclear que es también una característica de las células dediferenciadas (alteraciones en las láminas que se encargan de la morfología nuclear). Estos núcleos son fácilmente deformables, lo que les permite la migración (caso similar a lo observado en los neutrófilos que tienen un núcleo deformable).

Alteraciones de la cromatina

El incremento de los dominios de eucromatina refleja cambios epigenéticos mediados por hipometilación del DNA y de las histonas nucleosomales, y se caracteriza por la descondensación de la cromatina. Los genes que codifican las enzimas responsables de las marcas epigenéticas de las histonas frecuentemente están mutados o amplificados en células tumorales.

Alteraciones de la polaridad y adhesión celular

Polaridad de las células epiteliales

Las células epiteliales son polarizadas con dominios apicales y basolaterales muy importantes para su función. Los dispositivos de contacto intercelular son esenciales para establecer la polaridad en los epitelios. Las mutaciones de los genes del cáncer pueden alterar la polaridad celular y desestabilizar los contactos intercelulares.

Como ejemplo, veamos los enterocitos que tienen una microvellosidad que tienen filamentos de actina que interactúa con las citokeratinas. Hay dos proteínas esenciales para la regulación de la longitud de las microvellosidades: Ezrina y Esp8. En cáncer de colon hay alteración en la polaridad, tamaño de las microvellosidades. Si se bloquea la Esp8 por shRNA se generan alteraciones severas en las microvellosidades y polaridad.

Alteraciones en la adhesión celular (uniones adherentes – E-Cadherina/Beta-Catenina)

La unión adherente es un mecanismo de cinturón en donde hay filamentos de actina intracelular se unen a la proteína de membrana E-Cadherina que también sirve de puente de unión a otras E-Cadherina de las células adyacentes (en presencia de Calcio). En carcinoma hay pérdida de la E-Cadherina con impacto importante en su biología adquiriendo un fenotipo invasor y más mesenquimal (transición epitelio-mesénquima).

En las células de carcinoma de colon hay un déficit en la expresión de E-cadherina y localización nuclear de Beta-Catenina. La Beta-Catenina nuclear funciona como un coactivador transcripcional que terminan estimulando la expresión de genes de proliferación celular. [El tratamiento con vitamina D induce la expresión de E-cadherina y la relocalización de Beta catenina en las uniones adherente \(diferenciación epitelial\).](#)

Inestabilidad cromosómica

Alteración de los telómeros

Los telómeros protegen los extremos de los cromosomas (DNA tel y shelterina) y son ensamblados en los cuerpos de Cajal nucleares. Las alteraciones de los telómeros pueden producir inestabilidad cromosómica. La expresión de la telomerasa se mantiene en la mayoría de los tumores. [Se pueden evaluar los telómeros con FISH con secuencias complementarias al hexanucleótido de los telómeros.](#) El acortamiento de los telómeros en células tumorales pueden inducir proceso de fusión y fragmentación de cromosomas. En condiciones normales, los acortamientos críticos activan la vía p53 iniciando senescencia. Cuando el p53 no funciona, las células

continúan su proliferación con desarrollo de inestabilidad cromosomal: fusión de cromosomas (de las cromátides hermanas, al llegar a la anafase se producen rupturas de cromosomales) – aneuploidía con pérdida de alelos.

Translocaciones

Las translocaciones son el intercambio recíprocas de material cromosomal y son frecuentes en el cáncer, especialmente en linfomas y leucemias. Se producen preferentemente entre cromosomas adyacentes (arquitectura nuclear). Por ejemplo, en linfocitos B, la proximidad de los cromosomas 8 y 15 favorece su translocación en el linfoma de Burkitt y la inserción del gen Myc (cromosoma 8) en el locus IGH (cromosoma 14) – con distancias menores de media micra entre los genes implicados.

Aneuploidía

La aneuploidía (reparto desigual de los cromosomas entre las células) es muy común en los tumores sólidos y se debe a aberraciones en la fase de la mitosis. En las células normales la aneuploidía activa la vía p53-p21 y se produce parada de ciclo (senescencia).

Amplificación de los centrosomas

La amplificación de los centrosoma con formación de husos mitóticos multipolares son frecuentes en cáncer y pueden surgir por: 1. defectos en la disociación de las cohesinas (alteración en las separasas); 2. disfunción del punto de control de la mitosis en el kinetocoro que se encargan de establecer si la interacción de los microtúbulos con el kinetocoro es la adecuada. En cáncer hay mutaciones de genes implicados en este proceso como Bad2, Bub

Alteraciones del ciclo centriolar

La duplicación del dDNA y del centrosoma son mecanismos celulares estrictamente coordinados. Los errores en la duplicación del centrosoma pueden dar lugar a centriolos supernumerarios y al formación de mitosis multipolares.

Amplificación del centrosoma y mitosis multipolares.

Resultantes de alteraciones en la expresión de Aurora y Polo-like quinasas y de la separasa producen disfunción del ciclo centriolar.