

Resumen realizado por: Mauricio Lema Medina
Nombre del profesor: Joaquín Arribas
Título del curso: Máster en Oncología Molecular - CNIO: 2012-2014
Fecha: 27.09.2012

ONCOCENGENES QUE CODIFICAN FACTORES DE CRECIMIENTO Y RECEPTORES TIROSINA QUINASA

Comentarios preliminares

La fosforilación de proteínas fue descubierta a principios del siglo XX. En los 1930's se descubrieron la fosforilación de las serinas. En los 60-80's se encontraron las primeras tirosinas kinasas. En 1980 se aisló y clonó la primera tirosina kinasa (src) por Tony Hunter, y se esclareció su mecanismo de acción. En corto tiempo, las tirosina kinasas han sido dianas moleculares importantes para el tratamiento de enfermedades. En el proyecto genoma humano no hubo contribución a la biología de las tirosina quinasa, porque todas ya habían sido caracterizadas previamente.

Trivia

En el kinoma humano hay 518 kinasas, de las cuales 90 son tirosin kinasas, 58 de ellos son receptores.

Estructura y modos de dimerización de las receptores Tirosina quinasa

Hay muchas familias de los receptores de tirosina kinasa (diapositiva 6) que son moléculas de transmembrana con dominios extracelular, e intracelular. Todos los receptores Tirosina quinasa funcionan por DIMERIZACIÓN u OLIGOMERIZACIÓN. Los dominios intracelulares de los receptores Tirosina quinasa exhiben su actividad tirosina quinasa. Los modos de dimerización de los receptores son diferentes: 1. Sin contacto entre los receptores, unidos sólo por el ligando – que es un dímero (ie, NGF). 2. Contacto receptor-receptor y el ligando causa cambios conformacionales que facilitan la activación (ie, EGFR). 3. El receptor Kit es un dímero, pero también hay unión receptor-receptor (también el PDGF). 4. El FGFR se unen entre sí junto el ligando (el FGF) y con la matriz extracelular. 5. El receptor de insulina es un dímero que está unido siempre por puentes disulfuro, pero que tiene sus quinasa muy separadas. Cuando se une su ligando, se producen cambios conformacionales que acercan a las quinasa intracelulares, activándolas.

Modelos de activación de las kinasas

Los receptores Tirosina quinasa monoméricos son inactivos. Sus dominios intracelular tienen un dominio catalítico (la quinasa propiamente) y otro regulador. La quinasa se mantiene inactivo porque hay un dominio de activación (también conocido como “activation loop”) que permanece inactivo por tener una tirosina no fosforilada que ocupa el sitio de unión del ATP de la quinasa. La dimerización de receptores por los ligandos aproxima los dominios quinasa y aumenta la probabilidad de transfosforilación de una quinasa a otra en el dominio de activación (fosforilando la Tirosina crítica). La Tirosina fosforilada ya no encaja en el sitio del ATP, y se desplaza permitiendo que el ATP sirva de sustrato para la actividad quinasa. En ese momento la quinasa cambia de conformación, y se aumenta la actividad kinasa en 100 veces. Este modelo funciona para todos los receptores Tirosina quinasa, excepto por el EGF. El EGF no se requiere de fosforilación en el “activation loop”, sino que al acercarse las quinasa entre sí, la una lo desplaza alostéricamente exponiendo el sitio de unión del ATP para la actividad quinasa.

Después de esta primera fosforilación hay varias fosforilaciones secuenciales muy bien coreografiadas, bien sea en la misma tirosina kinasa o en otras proteínas (como la insulina). Las Tirosinas fosforiladas son sitios de anclaje a proteínas.

Familias de receptores de tirosina kinasa activadas en cáncer
Son varios. Revisión del NEJM 2005 (Krausse). Se muestran tablas inanes de las que poco se aprende.

PDGF

Los ligandos del PDGFR son dímeros constitutivos por enlaces disulfuros intermoleculares e intramoleculares. Hay varios tipos de PDGF y PDGFR que activan las mismas vías de transducción de señales pero no en el mismo orden, ni en la misma intensidad. El PDGF fue el primer factor de crecimiento implicado en neoplasia al estudiar el virus de sarcoma simiana en donde se estableció que el oncogén era la cadena beta de PDGF. En humanos el primer tumor implicado con PDGF fue el Dermatofibrosarcoma protuberans donde hay alteraciones en los cromosomas 17 y 22 que causan fusión del gen del colágeno tipo I con el gen del PDGF-B, con la delección del exón I del PDGF-B que lo activa constitutivamente.

El PDGFR alfa está sobre-expresado en GIST, GBM, leucemia mielomonocítica (Fusión Tel/PDGFR, que dos receptores formando dímeros constitutivos), síndrome hipereosinofílico (fusión del FIP1L1/PDGFR).

EGF

Funciona en forma combinatoria. Hay 4 tipos receptores en la familia EGFR (Her 1-4). El Her3 tiene una kinasa muy poco activa. El Her2 no tiene receptor conocido, pero es el "partner" de heterodimerización preferido por todos los receptores. Todos los dímeros activan las mismas rutas de señalización, pero con diferente potencia y duración. Por ejemplo, los heterodímeros Her3/Her2 estimula la PI3K en forma muy importante, en tanto de los Her2/Her2 lo hacen con mucha menor potencia y duración.

Ligandos EGFR

Son muchísimos. Los ligandos de la familia EGF se sintetizan como moléculas de transmembrana que y son de muy diversa naturaleza. Todos tienen en común al menos un dominio de EGF. Se incluyen los proEGF, proAR, proTGF-alfa, proHB-EGF, proBTG, proEPG, Herregulinas. Cada ligando tienen afinidades diferentes por los diferentes receptores. Durante algún tiempo se pensó que los ligandos se unían al receptor por vía yuxtacrina (célula-célula), pero se ha visto que así no se activa la cascada de señales porque los receptores no tendrían movilidad. Más recientemente se han identificado metaloproteasas (como ADAM17) que son capaces de liberar el dominio extracelular EGF que se uniría a los receptores (*fuga de ideas: Inhibiendo la proteasa se podría bloquear la vía del EGF*). Los dominios EGF son, como los PDGF, pequeños, compactos, globulares, estabilizados por puentes disulfuro intramoleculares, y son muy estables.

Activación de los receptores de la familia EGF

Los EGFR tienen varios dominios extracelulares (I, II y III). El II es el dominio de dimerización. Cuando EGF interactúa con el EGFR causa cambios conformacionales que expone los dominios de dimerización para interactuar con otros receptores. El Her2 siempre tiene el dominio de dimerización expuesto (por ello no requiere de ligando).

Posteriormente se activa la actividad tirosina quinasa del dominio intracelular. Al acercarse las quinazas se desplaza el activation loop en forma alostérica, y se desencadenan las acciones que ya fueron descritas arriba. Finalmente, se desencadenan varias rutas de señalización que interactúan de forma compleja entre sí y con otros. Se ha tratado de aplicar la teoría de biología de sistemas por Yarden tratando de encontrar, en medio del caos, los nodos crítico más robustos que la controlan. Se postuló, entre otros que el LRIG1 era importante por éste método y en forma independiente se ha observado que éste es gran represor de la vía con importancia en la formación de las glándulas intestinales.

Fuga de ideas: Her2 y cáncer de mama

Slamon presentó en 1987 la relación entre la expresión de Her2 y la supervivencia global en pacientes con cáncer de mama. *Algo balbucea sobre drogas anti Her2, que no nos edifica.* Termina los últimos minutos sobre sus investigaciones en el Vall d'Hebron. p95HER2: Al evaluar el Her2 por Western Blot se encontraron p95 que es el dominio intracelular de Her2... se amputa la clase.

Comentarios finales de quien resumen

Esta clase no es tan ordenada como otras en el Master. Ello no la hace menos fascinante. Su mayor cualidad estriba en la capacidad que tiene el Dr. Arribas de estimular el pensamiento y, si se quiere, la imaginación sobre los diferentes procesos relacionados con los receptores Tirosina quinasa. Esto no queda reflejado en el resumen, y la falla es toda mía. En especial, la literatura sobre biología de sistemas de Yarden en búsqueda de los nodos críticos de control de las rutas EGF son magníficos. También la lectura del artículo original de Slamon en Science de 1987 sobre el Her2 nos da una sensación reconfortante de estar viviendo la historia.