

Las alteraciones cromosómicas como mecanismo de activación oncogénica

Javier Benítez
*Dpto. Genética,
Fundación Jiménez Díaz, Madrid.*

En los últimos años se han empezado a conocer las bases moleculares de las neoplasias humanas al haberse detectado la existencia de genes humanos con secuencias homólogas a la de los oncogenes víricos. Estos genes, conocidos como protooncogenes en su forma “no transformante”, pueden llegar a convertirse en auténticos oncogenes por diferentes mecanismos de activación; mutaciones puntuales, amplificación génica, alteraciones cromosómicas etc. El oncogén *ras* fue el primer ejemplo que demostró la transformación de un protooncogén humano en un oncogén como consecuencia de una mutación puntual. Hoy día tenemos diferentes ejemplos de este tipo y se sabe que esta familia de oncogenes se encuentran activados y presentes en aproximadamente un 20% de los tumores humanos.

Paralelamente se han ido describiendo otros oncogenes (c-MYC, MYB, FOS, ERB, ABL etc.) muchos de los cuales tienen un mecanismo de activación distinto debido en su mayor parte a alteraciones cromosómicas específicas. Tres son los principales cambios cromosómicos; translocaciones, inversiones y deleciones. Las dos primeras se pueden diferenciar entre: a) aquellas alteraciones que se encuentran específicamente en determinados tumores

(primarias), y b) aquellas otras que se pueden encontrar indistintamente en los diferentes tumores (secundarias). Los puntos de rotura de muchas de las alteraciones cromosómicas primarias han sido clonados emergiendo una serie de principios generales del estudio de los genes que se han aislado, entre otros los oncogenes.

Con respecto a las deleciones la consecuencia suele ser la pérdida de un gen en uno de los cromosomas mientras que el otro gen se encuentra mutado. La existencia de estos genes recesivos ligados a un tumor en contraste a los anteriores, los oncogenes, que se comportan de forma dominante ha dado lugar al término de, genes supresores tumorales para indicar la condición de represores de la expresión del propio gen o de otros genes localizados en otros cromosomas.

Finalmente existe otro mecanismo de amplificación génica relacionado con unas alteraciones cromosómicas específicas conocidas como HSR (regiones homogeneamente teñidas) y DM (dobles minutos), que se encuentran presentes en una amplia variedad de tumores sugiriendo que la amplificación génica puede jugar un importante papel en el desarrollo de muchos de estos tumores.

1. Activación de los oncogenes

Dos son las principales consecuencias a nivel molecular de las translocaciones e inversiones; o bien los genes de las inmunoglobulinas o de los receptores de células T se sitúan en la vecindad de un protooncogén activándolo y sobreexpresándolo, o bien la rotura se produce en los dos genes de los dos cromosomas produciendo una proteína híbrida. Algunos ejemplos de las dos situaciones se encuentran recogidos en la TABLA I.

Las dos primeras alteraciones cromosómicas estudiadas desde el punto de vista molecular constituyen un ejemplo de estas dos situaciones. En la translocación t(8;14), específica del linfoma de Burkitt, un protooncogén c-MYC localizado en el cromosoma 8, se sitúa al lado de un gen de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (Ig) localizado en el cromosoma 14, mediante una translocación entre ambos cromosomas. El resultado es una activación del oncogén al pasar su control a depender del gen de las Ig que es un gen muy activo dado que está continuamente reestructurando sus distintos segmentos genéticos para generar anticuerpos específicos. Muchas otras translocaciones e inversiones que afectan a los genes de las Ig o receptores de células T resultan en una activación genética especialmente de genes que son factores de transcripción muchos de ellos envueltos en la diferenciación celular. Sin embargo hay otras como la translocación t(14;18) específica de los linfomas

foliculares, en la que el oncogén involucrado c-BCL2 es un regulador de la muerte celular (apoptosis) ; en estos linfomas cuando existe una sobreexpresión de la proteína BCL2, la célula se ve protegida de la muerte permitiendo de esta manera que se produzcan nuevas mutaciones debido a su mayor supervivencia, que terminarán llevando a la célula B a un estado tumoral.

TABLA I

Algunas alteraciones cromosómicas específicas de determinados tumores tanto hematológicos como sólidos.

Sin fusión de genes:

Alteración	Gen afectado	Enfermedad	Gen reordenado
t(8;14)	c-MYC	L. Burkitt	IgH, IgL
t(2;8)			
t(8;22)			
t(10;14)	HOX-11	LAL-T	RCT
t(11;14)	BCL-1	LLC-B	IgH
t(14;18)	BCL-2	L. Folicular	IgH
inv14	TCL-1	LLC-T	RCT
t(14;19)	BCL-3	LLC-B	IgH
t(5;14)	Il-3	LAL preB	IgH

Con fusión de genes:

Alteración	Gen afectado	Enfermedad
t(9;22)	ABL/BCR	LGC
t(15;17)	RARA/PML	L. Promielocítica
t(4;11)	MLL/AF4	L. A. Linfoblástica B
t(11;19)	MLL/ENL	L. A. Linfoblástica B
t(8;21)	AML1/ETO	L. A. Mieloblástica
t(6;9)	DEK/CAN	L. A. Mieloblástica
inv16	Miosina	L. A. Mieloblástica
t(2;5)	NPM/ALK	L. Hodgkin
inv10	RET	Varios
t(11;22)	FLI1/EWS	S. Ewing
t(X;18)	SYT/SSX	S. Sinovial

LAL: Leucemia aguda linfoblástica. LLC: leucemia linfoide crónica.

LGC: leucemia granulocítica crónica.

La génesis del cromosoma Filadelfia (Ph) en las leucemias granulocíticas crónicas como consecuencia de la translocación 9;22 es otro ejemplo diferente de como la fusión de parte de un protooncogén c-ABL localizado en el cromosoma 9, con parte de un gen BCR localizado en un cromosoma 22 da lugar a una proteína híbrida con propiedades diferentes de las originales, en este caso una actividad tirosin quinasa muy incrementada. Este es posiblemente un mecanismo mas frecuente que el anterior en la tumorigénesis y afecta no solo a los factores de transcripción sino también a otros genes. Un ejemplo interesante lo constituye la translocación 15;17 en las leucemias promielocíticas donde el gen RARA (receptor del ácido retinoico) se une con un gen localizado en el cromosoma 17 conocido como PML. RARA es un receptor nuclear que se une al ácido retinoico; la proteína híbrida puede afectar a la transcripción de una serie de genes dependientes del ácido retinoico e importantes para la diferenciación mieloide. En este sentido, la nueva terapia en las leucemias promielocíticas con ácido retinoico ha sido muy importante al comprobarse una rápida maduración del promielocito permitiendo una diferenciación posterior rápida y normal.

La extrapolación de estos conocimientos a los tumores sólidos muestra que la mayor parte de las translocaciones que se observan en los diferentes tumores están asociadas a la formación de una proteína híbrida. Los sarcomas constituyen un buen ejemplo al ser bien conocidos desde el punto de vista citogenético y molecular. Así, en el sarcoma de Ewing, la translocación 11;22 fusiona una región rica en residuos serina, tirosina de un gen EWS a otro gen FL11 del cromosoma 11, en un dominio de unión al DNA y de activación de transcripción, ambos componentes cruciales de la tumorigénesis.

2. Genes supresores

Frente al esquema de dominancia y ganancia de función de los oncogenes, no encontramos con otro concepto diferente que es el de recesividad y pérdida de función característico de grupo de los genes supresores. Aquí es necesario una pérdida de función de los dos alelos, generalmente con una mutación germinal y posterior pérdida del otro alelo mediante delección citogenética o molecular. El clásico gen recesivo sería el gen Rb del retinoblastoma del que desde principios de los años 70 se postulaba que era necesario una doble mutación para que el gen perdiera su actividad. Estos datos se confirmaron a finales de los 80 y principios de los 90 con técnicas moleculares observándose que era necesario una doble mutación (o delección-mutación, o doble delección) para reprimir la actividad génica. Actualmente existen un gran número de ejemplos de estos genes que están presentes no solo en los

cánceres familiares como Rb, en poliposis de colon familiar (gen APC), cáncer de mama familiar (genes BRCA1 y 2) etc., sino también en una amplia variedad de tumores y leucemias como P.53 en tumores sólidos y linfomas, o el gen ALG localizado en cromosoma 5 y característico de las leucemias especialmente de tipo mieloide con la alteración 5q-(TABLA II). Aunque en este caso no se conoce todavía el gen relacionado, es fácil suponer que una alteración constante definida como una deleción 5q- pueda tener una segunda mutación en la misma vía que el Rb o APC. Con respecto a P.53 es uno de los genes supresores mas importantes de la actualidad por su capacidad de comportarse como “dominante” aun cuando se trata de un gen supresor. La función de P.53 está centrada en el control de la iniciación de la síntesis de ADN. Una célula en condiciones normales que ha sufrido un daño en su ADN, sufre una parada antes de iniciar la síntesis que permite o bien la reparación del DNA o bien la muerte celular si el daño ha sido grande. Cuando no existe función de P.53 la célula entra en división aún cuando no esté en condiciones para ello produciéndose un acumulo del daño cromosómico.

TABLA II

Algunos genes supresores involucrados en tumores humanos y relacionados con deleciones cromosómicas

Gen supresor	<i>locus</i>	Enfermedad
RB1	13q	Retinoblastoma
WT1	11p	Tumor Wilms
DCC	18q	Cáncer Colon (poliposis)
APC	5q	Cáncer Colon (poliposis)
BRCA1	3q	Cáncer Mama
BRCA2	13q	Cáncer mama
NF1	17q	Neurofibromatosis 1
NF2	22q	Neurofibromatosis 2
MEN	10q	tumores endocrinos
P.53	17q	varios

3. Amplificación génica

La amplificación génica es un mecanismo por el cual la expresión de un determinado producto génico puede estar incrementado sin cambios en su regulación transcripcional. Estas amplificaciones génicas están unidas a dos alteraciones citogenéticas específicas de los tumores que son las HSR y los

DM. Si bien en células cultivadas las HSR y DM están asociadas a resistencia a drogas citotóxicas, *in vivo*, especialmente en tumores sólidos, las HSR y DM son un reflejo de amplificación oncogénica; AKT2 es un gen que se suele encontrar amplificado en tumores de ovarios; c-MYC por el contrario tiene un espectro tumoral mas amplio pudiendo estar relacionado con el estado de progresión tumoral y metástasis y considerado como un marcador de valor pronóstico.

4. Aplicaciones clínicas

La identificación de determinados marcadores cromosómicos tiene un especial valor diagnóstico y pronóstico, dado que en el primer caso ayuda al diagnóstico clínico de muchos tumores hematológicos o sólidos, y en el segundo contribuye a establecer unos criterios evolutivos de la enfermedad. Sin embargo en muchas ocasiones las técnicas citogenéticas no tienen la suficiente sensibilidad para detectar una alteración concreta bien porque se obtiene un bajo número de metafases, bien porque la morfología cromosómica es muy mala o bien porque el paciente se encuentra en remisión parcial y presenta un bajo porcentaje de células tumorales inalcanzables para el ojo y las técnicas convencionales.

Las técnicas moleculares han venido a solventar en gran medida estas limitaciones dado que es posible la identificación de estas alteraciones mediante análisis molecular de la muestra tumoral para estudiar los reordenamientos producidos como consecuencia de esas translocaciones, inversiones y deleciones. Así, la t (9;22) o lo que es lo mismo el cromosoma Ph se puede detectar con técnicas de Southern blot (SB) utilizando para ello sondas de DNA de la región de BCR en el cromosoma 22. La detección de bandas distintas de las observadas en población control es indicativo de que se ha producido una variación de esa zona a nivel molecular, compatible en este caso con un cromosoma Ph. Lo mismo ocurre con las alteraciones cromosómicas vistas anteriormente, ya que todas ellas pueden identificarse con técnicas de Southern. La ausencia de bandas aberrantes en estos mismos pacientes sería indicativo de un proceso en remisión. Sin embargo la resolución del SB es limitada (mas de un 10% de células tumorales), requiere de varios microgramos de DNA para el estudio y en general de una batería de 2 ó 3 sondas para tener una confirmación diagnóstica. Todos estos datos hacen que esta técnica tenga también sus limitaciones especialmente cuando se quiere valorar la evolución de un paciente o la detección de enfermedad mínima residual.

Para solventar este problema se puede acudir a los estudios con PCR a partir de RNA obtenido del propio material tumoral a estudiar y posterior

transcriptasa inversa para obtener un c-DNA factible de estudio. Mediante esta técnica RT-PCR se pueden identificar alteraciones cromosómicas a nivel molecular en pacientes aparentemente normales desde el punto de vista citogenético y en consecuencia monitorizar la enfermedad mínima residual. De esta manera la leucemia promielocítica ha sido una de las grandes beneficiarias dado que la translocación t(15;17), específica de la misma, es de difícil detección con técnicas citogenéticas inclusive en la fase diagnóstico, requiere al menos tres sondas con SB si se usa esta técnica como alternativa, y en consecuencia la posibilidad de seguir la evolución del paciente presenta sus limitaciones. Con la RT-PCR todo ello se ha superado siendo diagnóstica de la translocación en el 100% de los casos, e incluso detectando ésta en pacientes aparentemente en remisión completa.

Con respecto al tratamiento el asunto es mas complejo dado que la mayor parte de las proteínas son nucleares o intracelulares siendo necesaria la introducción de agentes terapéuticos dentro de la célula tumoral. Las estrategias terapéuticas estarían basadas en interferir cualquier paso a nivel de transcripción, traducción y función de la proteína. En este sentido el tratamiento con ácido retinoico en las leucemias promielocíticas constituye un buen ejemplo de como el conocimiento de la función de la proteína química puede ayudar a diseñar una estrategia terapéutica.

5. Referencias

1. Carbone DP (1994). Oncogenes y genes supresores tumorales. Hospital Practice (ed. española) 9:7-15. Sandberg AA (1990) The chromosomes in human cancer and leukemia. Elsevier, New York.
2. Young BD (1992). The molecular genetics of hematological malignancy. Clin Hematol 5, 792-963.