

Carcinogénesis colónica: proceso de transformación neoplásica

V. Catalán, B. Honorato, F. García, E. Bandrés, N. Zabalegui, R. Zárata, E. Salgado, J. García-Foncillas
*Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina.
Universidad de Navarra*

Correspondencia:

Jesús García-Foncillas
Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología
Clínica Universitaria. Universidad de Navarra
Avda. Pío XII, 36
31008 Pamplona
(jgfoncillas@unav.es)

Resumen

El cáncer colorrectal es uno de los principales problemas de salud, ya que constituye la tercera causa de muerte por cáncer más frecuente tanto en hombres como en mujeres. Aunque se están realizando ensayos clínicos con nuevos agentes terapéuticos, se precisan nuevas dianas y estrategias para aumentar la supervivencia de estos pacientes. Para conseguir este objetivo es imprescindible conocer los mecanismos de la carcinogénesis colorrectal.

A nivel molecular, tanto la activación de oncogenes como la inactivación de genes supresores tumorales, son procesos cuya implicación en la carcinogénesis colorrectal es bien conocida. Mutaciones que inactivan el gen supresor APC o mutaciones que activan el gen que codifica β -catenina, juegan un papel esencial en la primeras etapas de la progresión tumoral; mientras que alteraciones en p53 están implicadas en el paso a adenocarcinoma. También están implicados en el desarrollo tumoral otros genes como K-Ras o genes supresores tumorales presentes en el cromosoma 18q (DCC, DPC4).

El fallo de los sistemas de reparación de ADN contribuye al desarrollo de otros tumores de colon (hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH3 y GTBP/p16). Mutaciones en estos genes inducen errores en la replicación de di y trinucleótidos originando lo que se conoce como inestabilidad de microsatélites.

La progresiva acumulación de mutaciones en estos genes origina cambios en las células epiteliales de colon que conducen al desarrollo de un proceso neoplásico.

Palabras clave: Cáncer colorrectal. Carcinogénesis. APC. p53. Inestabilidad cromosómica.

Introducción. Cáncer de colon

El cáncer colorrectal es la segunda neoplasia más común en los países desarrollados, representando aproximadamente de 20 a 30 fallecimientos por 100.000 habitantes. Después del cáncer de pulmón en hombres y del cáncer de mama en mujeres, es la principal causa de muerte por cáncer. El pronóstico de los pacientes que desarrollan la enfermedad depende

Summary

Colorectal cancer is a major health problem, representing the third most frequent cause of death from cancer in both men and women. Clinical trials of new chemotherapeutic agents are ongoing; however, a complete cure for patients with advanced colorectal cancer awaits new targets and strategies. A comprehensive understanding of the mechanisms of colorectal carcinogenesis will be essential to achieve this goal.

At the molecular level, activation of oncogenes and inactivation of tumor suppressor genes are processes known to be involved in colorectal carcinogenesis. Additionally, abrogation of mismatch repair systems contributes to some colorectal cancers. Inactivating mutation of the APC gene, or activating mutation of the β -catenin gene, plays an essential role at the beginning of colorectal carcinogenesis, whereas p53 alterations are implicated at adenomacarcinoma transition. Other genes such as K-ras and tumor-suppressor genes on chromosome 18q (DCC, DPC4) have also been reported to be involved in the adenoma carcinoma sequence. Furthermore, changes in the DNA mismatch repair genes have been identified (hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, GTBP/p160 and hMSH3). These mutations induce replication errors in di-nucleotide and tri-nucleotide microsatellites (microsatellite instability).

The accumulation of the subsequent gene mutations implies that the colon epithelial cells with mutated genes progress into a neoplastic state.

Key words: Colorectal cancer. Carcinogenesis. APC. p53. Chromosomal instability.

del estadio tumoral en el diagnóstico y sigue siendo parecido al descrito en 1932 por Dukes y en 1954 por Astler y Coller. La principal forma de tratamiento así como la más efectiva es la cirugía¹, a pesar de que el 50% de pacientes en los que se ha conseguido la eliminación macroscópica completa de su enfermedad experimentan una recidiva.

La mayor parte de los tumores de colon se desarrollan a partir de pólipos adenomatosos o adenomas ya existentes. Es-

tas lesiones son comunes en personas de edad, y se clasifican según su arquitectura histológica en tubulares, tubulovelloosas y vellosas; asociándose estas últimas con un mayor potencial de malignización². Es relativamente raro que adenomas aislados progresen hasta la malignidad y, por lo tanto, es importante identificar pólipos de "riesgo elevado". Para evaluar este riesgo, además de los criterios histológicos, se están utilizando cada vez más criterios de biología molecular.

La mayor parte de los casos de cáncer colorrectal aparecen de forma esporádica aunque los síndromes hereditarios pueden suponer un 5% del total. También existen casos en los que la historia familiar no sigue un patrón de herencia mendeliana debido a una penetrancia incompleta y efectos multifactoriales. Incluso en casos de cáncer colorrectal esporádicos, la descendencia tiene un aumento en el riesgo de sufrir la enfermedad¹. Pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas del tubo digestivo como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn también presentan mayor riesgo de desarrollo tumoral^{3,4}.

Síndromes de cáncer de colon hereditarios

Los dos principales síndromes de cáncer de colon hereditarios son: poliposis adenomatosa familiar (FAP) y cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC).

Poliposis adenomatosa familiar (FAP)

Es una enfermedad autosómica dominante en la que se desarrollan múltiples pólipos adenomatosos en el colon durante la segunda o tercera década de vida. Estos pólipos son histológicamente idénticos a los que se desarrollan en el cáncer colorrectal esporádico y, aunque poseen un bajo riesgo de malignización, su elevado número aumenta el riesgo de padecer la enfermedad a los 40 años en un 100%⁵. El gen responsable de FAP es APC (adenomatous polyposis coli)^{6,7}, que codifica

una proteína citoplasmática de 300 kDa. La mayoría de las mutaciones truncan la proteína. Para el desarrollo de FAP sólo se necesita un alelo mutado, lo que sugiere el efecto dominante negativo de la proteína mutada.

Cáncer de colon hereditario no polipósico (HNPCC)

Se describe como una predisposición autosómica dominante al cáncer de colon que carece de la elevada poliposis característica de FAP. Como características clínicas de HNPCC se incluyen la asociación con otros tumores, la predilección por el lado derecho del colon y una alta frecuencia de tumores mucinosos poco diferenciados con alta probabilidad de invasión. Se han identificado como los responsables de HNPCC los genes de reparación de ADN. Mutaciones en el gen *hMSH-2* originan el 60% de los casos de HNPCC, en *hMLH-1* el 30%, en *hPMS-1* el 5% y en *hPMS-2* también el 5%⁸⁻¹². Aaltoner y colaboradores demostraron que mutaciones en estos genes producen un marcador genético identificable conocido como inestabilidad de microsatélites¹³.

Genética molecular del cáncer de colon

En la última década se ha producido un gran aumento en el conocimiento de la biología molecular del cáncer, lo que ha permitido profundizar en los mecanismos que originan la enfermedad.

El cáncer de colon es resultado de una progresión y acumulación de diversas alteraciones genéticas¹⁴⁻¹⁶. Se considera que son varios genes, incluidos oncogenes (reguladores positivos del ciclo celular), genes supresores tumorales (reguladores negativos del ciclo celular) y genes de reparación del ADN, los que juegan un papel fundamental en la carcinogénesis colorrectal. El orden en el que ocurren las mutaciones en estos genes es crítico¹⁷. Los principales genes estudiados se muestran en la Tabla 1^{17,18}.

Tabla 1. Genes relacionados con carcinogénesis colorrectal

Gen	Función	Locus
Oncogenes		
K-Ras	Transducción de señales	12p12.1
CTNNB1	Adhesión celular, transducción de señales	3p21
SRC	Unión de proteínas, transducción de señales	20q12-q13
Neu/her2	Receptor factor de crecimiento	17q11.2-q12
Myc	Regulación ciclo celular	8q24.12-q24.13
Supresores tumorales		
APC	Adhesión celular	5q21
p53	Detiene el ciclo celular en G1	17p12
DCC	Adhesión celular	18q21.3
MCC	Transducción de señales	5q21
SMAD4		18q21
SMAD2		18q21
TGF-βRII	Transducción de señales	
Reparación		
hMSH-2	Reparación del ADN	2p16
hMLH-1	Reparación del ADN	3p21
hPMS-1	Reparación del ADN	2q31-33
hPMS-2	Reparación del ADN	7p22
hMSH6	Reparación del ADN	2p21

El proceso de formación tumoral a partir de una célula (monoclonal) implica la acumulación sucesiva de alteraciones en los genes. Las células cancerosas son inestables genéticamente y durante el proceso de carcinogénesis, aquellas que adquieren alteraciones sucesivas que les proporcionan ventajas en cuanto al crecimiento, van siendo seleccionadas y serán mayoritarias en el tumor.

En 1990 se desarrolló un modelo de carcinogénesis colorrectal en el cual se propuso que (i) en una etapa temprana, durante el desarrollo de los pólipos, aparecen mutaciones en el gen *APC*, (ii) a continuación, durante la etapa adenomatosa se originan mutaciones en *K-Ras* y (iii) mutaciones en *p53* y deleciones en el cromosoma 18 coinciden con la transición al carcinoma¹⁹. Esta secuencia adenoma-carcinoma fue propuesta inicialmente por Vogelstein y la teoría de la carcinogénesis escalonada, en múltiples etapas, está aceptada en la actualidad. No obstante, se han identificado cambios adicionales en este modelo. Recientemente se ha demostrado la relación entre la evolución histológica y la pérdida alélica de *APC*, *p53* y *DCC*: no se han encontrado pérdidas alélicas en tejido normal circundante pero si se han identificado en la zona 5q en la transición de epitelio normal a adenoma y en 17p en el paso de adenoma a carcinoma²⁰.

Principales genes implicados en carcinogénesis colorrectal

APC y β -catenina

El gen supresor tumoral *APC* tiene un papel crítico en el desarrollo del cáncer colorrectal esporádico, encontrándose mutado en más del 70% de cánceres colorrectales. Aunque mutaciones en línea germinal se distribuyen a lo largo del gen, las mutaciones somáticas están localizadas en el extremo 5' del exón 15¹⁷. Esta región está implicada en la interacción con β -catenina^{21,22}.

El principal avance en la comprensión de la función de *APC* se ha realizado estudiando su interacción con β -catenina y con una glicógeno sintetasa quinasa (*GSK-3 β*) como componente de la vía de señalización Wnt. Normalmente, en el citoplasma de una célula, *APC* junto con *GSK-3 β* se unen a β -catenina, que sufre una fosforilación que conduce a su degradación en el proteosoma²³. Mutaciones en *APC*, hacen que no se una a β -catenina y quede libre en el citoplasma. Así, β -catenina libre, transloca al núcleo donde puede formar un complejo con el factor de células T (*TCF*) y activar la expresión de los oncogenes *c-Myc* y ciclina D1, así como *c-jun*, *fra-1*, *PPAR δ* , *MMP-7* y *uPA*. β -catenina libre también forma un complejo junto a α -catenina, que a su vez, se asocia a la región citoplasmática de *E-cadherina*, una proteína transmembrana cuya región extracelular se puede unir con una célula vecina provocando la adhesión intercelular (Figura 1).

Las principales mutaciones encontradas en *CTNNB1* (gen que codifica β -catenina) se localizan en los residuos susceptibles de fosforilación por *GSK-3 β* . Como se cree que las mutaciones en *APC* promueven la carcinogénesis colorrectal evitando la degradación de β catenina²⁴⁻²⁶, se ha especulado que las mutaciones en *CTNNB1* tienen importancia en la pequeña proporción de cánceres colorrectales que carecen de mutaciones en *APC*^{27,28}.

K-Ras

El oncogen *K-Ras* codifica una proteína implicada en la transducción intracelular de señales. Para contribuir en la

carcinogenesis colorrectal las mutaciones en *K-Ras* han de ser de un tipo determinado: mutaciones "sin sentido" en uno de los residuos 12, 13 o 61 con ganancia de función (de esta forma, la célula se encuentra en ventaja de crecimiento)²⁹. Además, la mutación de *K-Ras* ha de seguir a la pérdida de *APC* ya que si *APC* está intacto, sólo se origina una lesión microscópica en el fondo glandular denominada foco aberrante no neoplásico³⁰. Las mutaciones de *K-Ras* se asocian con al menos dos características histopatológicas: mayor tamaño y mayor intensidad de displasia. El papel que desempeña la presencia de mutaciones en esta vía de desarrollo tumoral no está claro pero se han sugerido dos hipótesis: en primer lugar, implicación en la adquisición de un fenotipo de mayor agresividad ya que se asocia con un mayor grado de displasia y su consecuente progresión a carcinoma al alterarse la función *GTPasa* y perpetuar la unión *p21ras-GTP*. En segundo lugar, es importante constatar que el pequeño grupo de adenomas de un tamaño inferior al centímetro que presentan mutación del *K-Ras* son aquéllos con una más rápida evolución a displasia severa y carcinoma. En el carcinoma ya instaurado algunos autores han señalado que las transiciones de G a A, es decir, el cambio en el aminoácido traducido a glicina por aspártico en el codón 12 se asocia fundamentalmente a carcinomas de estadio B de Dukes mientras que los cambio G a T y G a C con un mayor riesgo de desarrollo de metástasis

DCC y otros genes en 18q

El gen *DCC* se encuentra en la región 18q22 y codifica una proteína de membrana de la superfamilia de la inmunoglobulinas³¹. La pérdida de actividad de genes localizados en 18q es importante en la carcinogénesis colorrectal pero la búsqueda de dianas todavía continúa, siendo de principal interés la región 18q21-18tel³². Genes candidatos de esta región son *SMAD4* y *SMAD2*, implicados en la vía de señalización de *TGF- β* ^{33,34}.

p53

Si la pérdida de *APC* es crítica en la formación de un adenoma, la pérdida de *p53* es crucial en el paso de adenoma a carcinoma. Se han detectado mutaciones en *p53* en un 70% de cánceres de colon esporádicos¹. El valor pronóstico de *p53* varía según los autores, encontrándose por lo general menor supervivencia en aquellos pacientes con sobreexpresión de la proteína o con mutaciones puntuales en el gen. El papel de *p53* se describe ampliamente en la revisión de Lane³⁵.

TGF β

TGF β es una citoquina capaz de influir en el crecimiento y diferenciación celular, en la modulación de la respuesta inmune y en el fenotipo o funciones de las EC. La cascada de señalización inducida por *TGF β* se inicia por su unión a uno de sus tres receptores: tipo I, II y III (Pm 55, 80, 280 kDa respectivamente). *TGF β RI* y II son serin-treonin quinazas que forman complejos y fosforilan a los factores de transcripción *Smad*. RI es incapaz de unir el ligando si no es en presencia de RII y RII es capaz de unir al ligando pero necesita a RI para la transducción de señales^{36,37}.

Se ha detectado la presencia de mutaciones en *TGF β RII* en tumores colorrectales de pacientes con HNPCC, produciéndose una inhibición de la señalización de *TGF β* . También suce-

Figura 1. Esquema de la vía APC-βcatenina

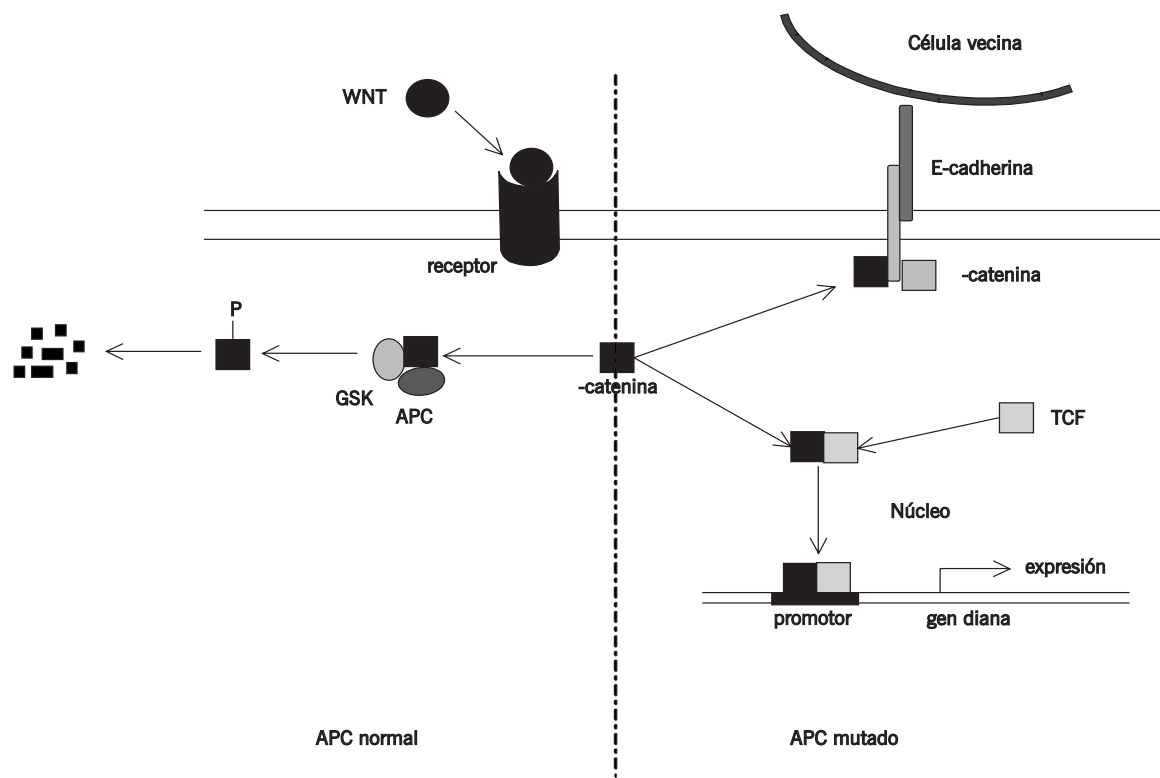
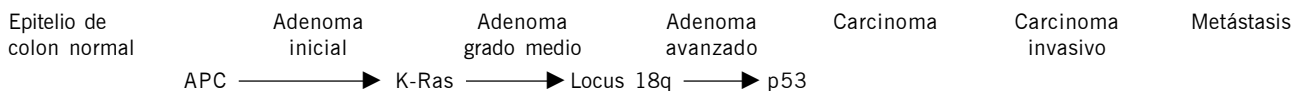
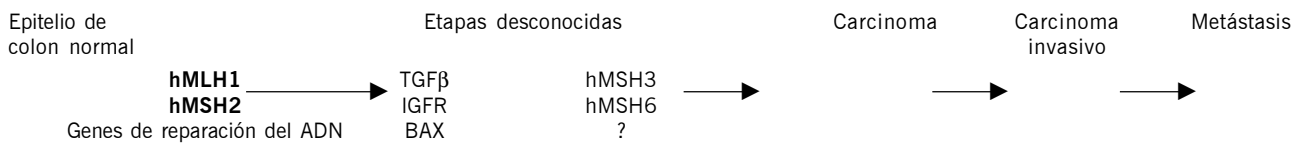


Tabla 2. Vías genéticas en la carcinogénesis colorrectal

Vía de inestabilidad cromosómica



Vía de fenotipo mutador



de en tumores colorrectales esporádicos que presentan inestabilidad de microsatélites. La mayoría de estos tumores muestran inactivación de ambos alelos por la existencia de mutaciones que cambian el marco de lectura dando lugar a una proteína truncada. Se han encontrado mutaciones que tienen como resultado la pérdida de función de TGFβRII en un 15% de tumores colorrectales³⁸.

Se han descrito cambios en los patrones de metilación del ADN que podrían seguir a las mutaciones en APC^{19,39}. Los cambios en la metilación pueden afectar al desarrollo tumoral de diversas formas como promover la no disyunción mitótica y ori-

ginar irregularidades cromosómicas⁴⁰. La expresión de muchos genes está controlada por la metilación del promotor por lo que una hipometilación podría activar un oncogén y una hipermetilación inactivar un gen supresor.

Modelo molecular de la carcinogénesis colorrectal

Como se muestra en la Tabla 2, se distinguen principalmente dos vías en la carcinogénesis colorrectal: vía del fenotipo supresor y vía del fenotipo mutador⁴¹.

Cada vía presenta una inestabilidad genómica característica:

- *Vía supresora*: le acompaña una inestabilidad cromosómica que se manifiesta en el desarrollo de tumores con aneuploidía y pérdidas frecuentes de heterocigosidad así como mutaciones que activan oncogenes y bloquean genes supresores. Son características las mutaciones en K-Ras, APC y p53. Pertenecen a este grupo un 85% de los casos esporádicos y los hereditarios de FAP.
- *Vía mutadora*: caracterizada por una inestabilidad de microsatélites. Se encuentra presente en HNPCC y en un 15% de los tumores esporádicos. La mayor parte de los tumores de esta vía son diploides o pseudodiploides y además se observa en ellos una ausencia de mutaciones en los genes alterados habitualmente en tumores de la vía supresora como APC, K-Ras y p53.

La vía mutadora es muy similar a la vía supresora. Ambas siguen el modelo propuesto por Knudson en el que el cáncer sólo se manifiesta cuando sufren mutaciones los dos alelos del mismo gen.

Bibliografía

1. Ilyas M, Straub J, Tomlinson IP, *et al.* Genetic pathways in colorectal and other cancers. *Eur J Cancer* 1999;35(14):1986-2002.
2. Midgley R, Kerr D. Colorectal cancer. *Lancet* 1999;353(9150):391-9.
3. Levin B. Inflammatory bowel disease and colon cancer. *Cancer* 1992;70(5 Suppl):1313-6.
4. Gillen CD, Walmsley RS, Prior P, *et al.* Ulcerative colitis and Crohn's disease: a comparison of the colorectal cancer risk in extensive colitis. *Gut* 1994;35(11):1590-2.
5. Cawkwell L, Quirke P. The molecular biology and genetics of colorectal cancer. En: Williams NS, ed. *Colorectal cancer*. London: Churchill Livingstone, 1996;1.
6. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, *et al.* Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991;253(5020):661-5.
7. Nishisho I, Nakamura Y, Miyoshi Y, *et al.* Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients. *Science* 1991;253(5020):665-9.
8. Fishel R, Lescoe MK, Rao MR, *et al.* The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993;75(5):1027-38.
9. Leach FS, Nicolaides NC, Papadopoulos N, *et al.* Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell* 1993;75(6):1215-25.
10. Papadopoulos N, Nicolaides NC, Wei YF, *et al.* Mutation of a mutL homolog in hereditary colon cancer. *Science* 1994;263(5153):1625-9.
11. Bronner CE, Baker SM, Morrison PT, *et al.* Mutation in the DNA mismatch repair gene homologue hMLH1 is associated with hereditary non-polyposis colon cancer. *Nature* 1994;368(6468):258-61.
12. Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, *et al.* Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 1994;371(6492):75-80.
13. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, *et al.* Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993;260(5109):812-6.
14. Powell SM, Zilz N, Beazer-Barclay Y, *et al.* APC mutations occur early during colorectal tumorigenesis. *Nature* 1992;359(6392):235-7.
15. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, *et al.* Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319(9):525-32.
16. Vogelstein B, Fearon ER, Kern SE, *et al.* Allelotype of colorectal carcinomas. *Science* 1989;244(4901):207-11.
17. Chung DC. The genetic basis of colorectal cancer: insights into critical pathways of tumorigenesis. *Gastroenterology* 2000;119(3):854-65.
18. Shozo B. Recent advances in molecular genetics of colorectal cancer. *World J Surg* 1997;21:678-87.
19. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61(5):759-67.
20. Boland CR, Sato J, Appelman HD, *et al.* Microallelotyping defines the sequence and tempo of allelic losses at tumour suppressor gene loci during colorectal cancer progression. *Nat Med* 1995;1(9):902-9.
21. Su LK, Vogelstein B, Kinzler KW. Association of the APC tumor suppressor protein with catenins. *Science* 1993;262(5140):1734-7.
22. Rubinfeld B, Souza B, Albert I, *et al.* Association of the APC gene product with beta-catenin. *Science* 1993;262(5140):1731-4.
23. Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, *et al.* Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* 1996;272(5264):1023-6.
24. Morin PJ. beta-catenin signaling and cancer. *Bioessays* 1999;21(12):1021-30.
25. Kikuchi A. Regulation of beta-catenin signaling in the Wnt pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;268(2):243-8.
26. Polakis P, Hart M, Rubinfeld B. Defects in the regulation of beta-catenin in colorectal cancer. *Adv Exp Med Biol* 1999;470:23-32.
27. Sparks AB, Morin PJ, Vogelstein B, *et al.* Mutational analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58(6):1130-4.
28. Wong NA, Pignatelli M. Beta-catenin, a linchpin in colorectal carcinogenesis? *Am J Pathol* 2002;160(2):389-401.
29. Bos JL. The ras gene family and human carcinogenesis. *Mutat Res* 1988;195(3):255-71.
30. Jen J, Powell SM, Papadopoulos N, *et al.* Molecular determinants of dysplasia in colorectal lesions. *Cancer Res* 1994;54(21):5523-6.
31. Keino-Masu K, Masu M, Hinck L, *et al.* Deleted in Colorectal Cancer (DCC) encodes a netrin receptor. *Cell* 1996;87(2):175-85.
32. Thiagalingam S, Lengauer C, Leach FS, *et al.* Evaluation of candidate tumour suppressor genes on chromosome 18 in colorectal cancers. *Nat Genet* 1996;13(3):343-6.
33. Takagi Y, Kohmura H, Futamura M, *et al.* Somatic alterations of the DPC4 gene in human colorectal cancers in vivo. *Gastroenterology* 1996;111(5):1369-72.
34. Eppert K, Scherer SW, Ozcelik H, *et al.* MADR2 maps to 18q21 and encodes a TGFbeta-regulated MAD-related protein that is functionally mutated in colorectal carcinoma. *Cell* 1996;86(4):543-52.
35. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;58(6381):15-6.
36. Platten M, Wick W, Weller M. Malignant glioma biology: role for TGFb in growth, motility, angiogenesis, and immune escape. *Microsc Res Tech* 2001;52:401-10.
37. Li C, Guo B, Bernabeu C, Kumar S. Angiogenesis in breast cancer: the role of transforming growth factor b and CD105. *Microsc Res Tech* 2001;52:437-49.
38. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, *et al.* Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science* 1995 Jun 2;268(5215):1336-8.
39. Gama-Sosa MA, Slagel VA, Trewyn RW, *et al.* The 5-methylcytosine content of DNA from human tumors. *Nucleic Acids Res* 1983 Oct 11;11(19):6883-94.
40. Counts JL, Goodman JI. Alterations in DNA methylation may play a variety of roles in carcinogenesis. *Cell* 1995 Oct 6;83(1):13-5.
41. Díaz-Rubio E. Alteraciones moleculares del cáncer colorrectal. *Cancer colorrectal* pp.5-22. Ed. Ergon.