



José M. Ortiz Melón

Editor científico
e-mail: edicion@ranf.com

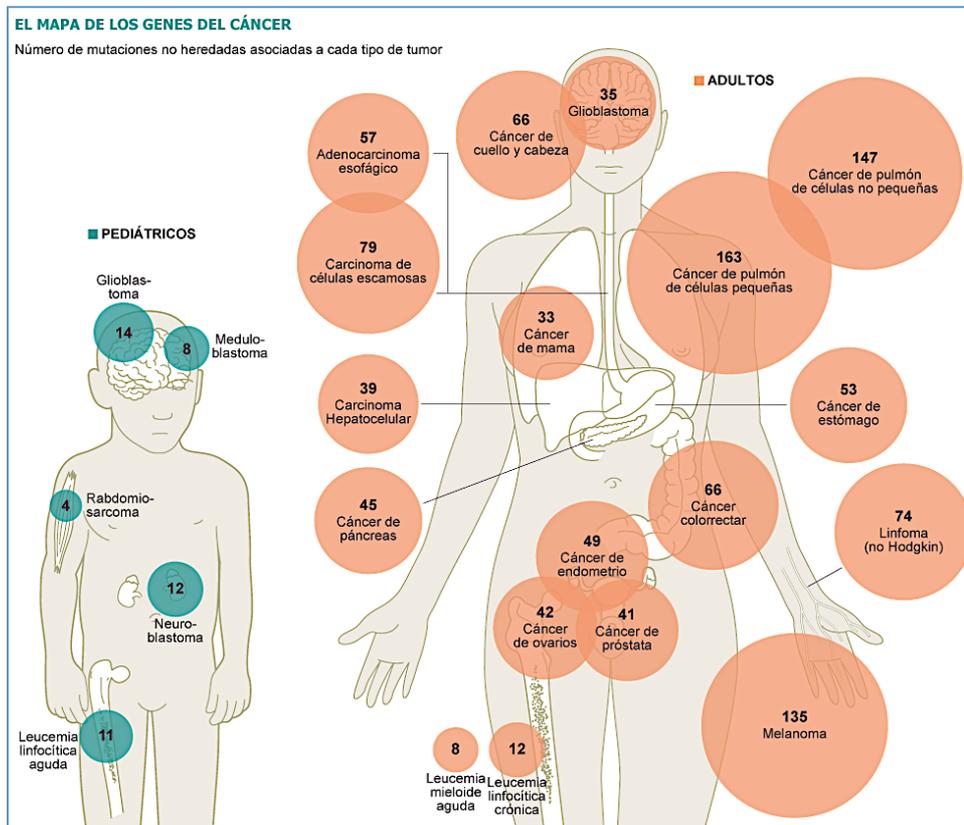
Lecciones de Genómica del Cáncer

En la última década los esfuerzos realizados en la secuenciación de muchos tipos de cáncer han permitido conocer las mutaciones presentes en los cánceres humanos más comunes. Esto ha sido posible por el espectacular descenso en el coste de la secuenciación de ADN, que se ha reducido cerca de 100 veces, y por los avances en esta tecnología. En la actualidad se dispone de datos suficientes como para poder tener una idea bastante aproximada de los genes del cáncer, y en consecuencia, de la biología del cáncer y de las estrategias para un mejor tratamiento. La Revista Science ha publicado con este motivo un número monográfico dedicado a revisar los avances en la genómica del cáncer. Consideramos de gran interés las ideas principales que se exponen en uno de ellos, el artículo titulado “Cancer Genome Landscapes” cuyo autor principal es el Dr. Bert Vogelstein.

¿ Cuantos genes mutados hay en un cáncer?

Una cuestión pendiente desde que comenzaron los estudios de identificación de los genes mutados en cáncer, era conocer cuantos genes mutados eran necesarios para iniciar un cáncer. En la actualidad estos estudios han revelado que hay aproximadamente 140 genes que cuando se encuentran alterados por mutaciones intragénicas, pueden promover o “dirigir” el proceso de la tumorigénesis. Un tumor típico, contiene de 2 a 8 de estas mutaciones “driver” y las restantes se consideran mutaciones secundarias o “passenger” ya que no confieren ventaja selectiva para el crecimiento. Por lo general, los tumores sólidos como los de colon, mama, cerebro o páncreas presentan un promedio de 33 a 66 genes mutados de los que el 95% son sustituciones de una sola base. Otros tipos de tumor contienen más o menos mutaciones que el promedio. Entre los que presentan más, se encuentran los melanomas y los tumores de pulmón, que contienen hasta 200 mutaciones diferentes por tumor. Este mayor número de mutaciones refleja la implicación de potentes mutágenos como la luz UV y el consumo de cigarrillos en la patogénesis de estos tumores. Así, los tumores de pulmón en fumadores presentan 10 veces más mutaciones somáticas que el mismo tipo de tumor en no fumadores. En el otro lado del espectro, los tumores

pediátricos y las leucemias, presentan muchas menos mutaciones que el promedio. Aproximadamente 9,6 mutaciones por tumor.



El curso temporal de las mutaciones

Otra pregunta que los investigadores han estado muy interesados en resolver se refiere a cuándo en el tiempo, se producen dichas mutaciones.

Los tumores evolucionan de benignos a malignos por adquisición de una serie de mutaciones a lo largo del tiempo. La “primera” mutación proporciona una ventaja selectiva en el crecimiento de una célula epitelial normal permitiendo que sobrecrezca sobre las células vecinas pasando a constituir un clon microscópico. Este proceso de mutación, va seguido de la llamada expansión clonal. Así, en el caso del cáncer de colon la “primera” mutación tiene lugar generalmente en el gen *APC*. El pequeño adenoma que resulta de esta mutación crece lentamente, pero una segunda mutación, generalmente en el gen *KRAS*, desata una segunda ola de expansión clonal que permite una expansión en el número de células. Las células que llevan la mutación en *APC* permanecen, pero en un número mucho menor que las que llevan ambas mutaciones. Este proceso de mutación seguido de expansión clonal, continúa, con mutaciones en genes como *PIK3CA*, *SMAD4*, y *TP53* generando finalmente un tumor maligno, que puede invadir la membrana basal subyacente y metastatizar en nódulos linfáticos y órganos distantes como el hígado. Las mutaciones que confieren una ventaja selectiva para el crecimiento al tumor se

denominan mutaciones “driver”. Cada mutación driver proporciona solo una pequeña ventaja selectiva para el crecimiento, pero al cabo de los años, este ligero aumento (una o dos veces por semana) resulta en una gran masa de miles de millones de células al cabo de varios años.

El número de mutaciones en ciertos tumores de tejidos que se renuevan, está directamente relacionada con la edad. Esta correlación, implica que más de la mitad de las mutaciones somáticas identificadas en estos tumores, tienen lugar durante la fase pre-neoplásica, es decir, durante el crecimiento de células normales que continuamente renuevan el epitelio gastrointestinal o el génito-urinario y otros tejidos. Todas estas mutaciones pre-neoplásicas son mutaciones secundarias o “passenger” que no tienen efecto en el proceso neoplásico. Este resultado explica porqué un tumor coleo-rectal en una persona de 90 años, tiene casi el doble de mutaciones que en una de 45 años. Este hallazgo también explica, al menos parcialmente, porqué tumores cerebrales avanzados (glioblastomas) y cánceres pancreáticos presentan muchas menos mutaciones que los cánceres coleo-rectales. A diferencia de las células epiteliales que tapizan las criptas del colon, que se dividen activamente, las células de la glía del cerebro y las de los ductos del páncreas no se dividen, y por tanto, tienen menos mutaciones. La mutación que “abre la puerta” (gatekeeping) en un cáncer pancreático o de cerebro, tiene lugar en una célula precursora que contiene pocas mutaciones, a diferencia de la célula precursora en el cáncer coleo-rectal que contiene muchas más mutaciones. Esta línea de razonamiento permite también explicar, porqué los cánceres pediátricos contienen muchas menos mutaciones que los tumores en adultos. Los cánceres pediátricos, tienen lugar con frecuencia en tejidos que no se renuevan, y aquellos que aparecen en tejidos que sí se renuevan como las leucemias, se originan en células precursoras que no se han renovado (dividido) tanto como en adultos. Estudios de secuenciación en pacientes leucémicos, apoyan la idea de que las mutaciones tienen lugar como sucesos al azar en células precursoras normales, antes de que dichas células adquieran la mutación iniciadora.

Ahora bien, ¿cuando tienen lugar el resto de las mutaciones durante la tumorigénesis? Debido a que las mutaciones en tumores se producen a una velocidad predecible y calculable, el número de mutaciones somáticas proporciona un “reloj” del tipo del que se emplea en biología evolutiva para determinar el tiempo de divergencia entre especies. Así, el número de mutaciones en las etapas de progresión del cáncer, se ha podido medir en el caso de cánceres coleo-rectales y pancreáticos. Aplicando el modelo evolutivo del reloj citado a estos datos, se extraen dos conclusiones contundentes: la primera es que se tardan décadas hasta desarrollar un cáncer metastático completo y segunda, que las mutaciones presentes en las lesiones metastáticas estaban presentes ya, en una gran número de células en los tumores primarios.

El tiempo de adquisición de las mutaciones, es importante para entender el proceso de la metástasis, que es responsable de la muerte de la mayor parte de los pacientes con cáncer. El tumor primario por lo general, puede ser extirpado por cirugía, pero lesiones metastásicas residuales, muchas veces indetectables y diseminadas, finalmente crecen, perjudicando la función de los pulmones, hígado y otros órganos. Desde una perspectiva genética, parecería que debiera existir mutaciones que convirtieran un cáncer primario en metastático, del mismo modo, que hay mutaciones que convierten una célula normal o un tumor benigno en un tumor maligno, pero a pesar de intensos esfuerzos, no se han podido encontrar alteraciones genéticas que distingan cánceres que metastatizan de aquellos que no metastatizan.

Una explicación posible, es que se trate de mutaciones o cambios epigenéticos que sean difíciles de identificar con las tecnologías actuales. Otra explicación, es que las lesiones metastásicas, no hayan sido estudiadas en suficiente detalle para poder identificar alteraciones genéticas dada su naturaleza heterogénea. Pero otra posible explicación, es que simplemente no existan genes de la metástasis. Un tumor maligno primario puede tardar muchos años en metastatizar, pero este proceso es explicable en principio por un proceso aleatorio. Así, los tumores avanzados liberan millones de células cada día a la circulación. Estas células tienen una vida media corta, y una fracción minúscula de ellas, es capaz de establecer una lesión metastásica. Se puede pensar, que las células circulantes de manera infrecuente y al azar, se alojen, en un lecho capilar o en un órgano que proporcione un microambiente favorable para el crecimiento. Cuanto mayor es la masa tumoral, mas probable será que este proceso tenga lugar. En este escenario, la evolución continua del tumor primario reflejaría ventajas selectivas de carácter local mas que ventajas selectivas futuras. La idea de que el crecimiento en sitios de metástasis no depende de alteraciones genéticas adicionales, está apoyada por resultados que muestran, que incluso células normales, cuando son colocadas en ambientes propicios, como un nódulo linfático, pueden crecer, formando organoides con una vasculatura funcional.

Alteraciones cromosómicas en tumores

Aunque la velocidad de mutaciones puntuales en células tumorales es similar a la de las células normales, la velocidad de cambios cromosómicos es mucho mas elevada. Debido a ello, la mayoría de los tumores sólidos presentan una amplia variedad de cambios en el número de cromosomas (aneuploidia) así como deleciones, inversiones, traslocaciones y otras anormalidades cromosómicas. Cuando una porción de un cromosoma se duplica o se suprime (deleciona), resulta difícil identificar los genes cuya ganancia o pérdida confieren una ventaja en el crecimiento de la célula tumoral. Estos genes diana se identifican mejor en el caso de traslocaciones cromosómicas, deleciones homocigóticas y amplificaciones

genéticas. Las traslocaciones por lo general producen la fusión de dos genes para crear un oncogen (como en el caso de *BCR-ABL* en la leucemia mieloide crónica) pero en un pequeño número de casos, pueden también inactivar un gen supresor de tumor al producir una truncación del mismo, o al separarle de su promotor. Las deleciones homocigóticas implican a uno o a unos pocos genes y la diana es siempre un gen supresor de tumor. Las amplificaciones contienen un oncogen cuyo producto proteico esta anormalmente activo, simplemente porque el tumor contiene de 10 a 100 copias del gen por célula comparado con las dos copias presentes en las células normales.

La mayoría de tumores solidos contienen docenas de traslocaciones. Pero como sucede con los genes *passenger* estas no dan lugar, por lo general, a una ventaja selectiva en el crecimiento celular. Los puntos de rotura de las traslocaciones no suelen contener genes y muchas de las traslocaciones y deleciones homocigóticas se encuentran adyacentes a los sitios por donde se producen las roturas de los cromosomas (sitios frágiles). Las células del cáncer parecen poder sobrevivir a estas roturas cromosómicas mas fácilmente que las células normales, debido a que contienen mutaciones en genes como *TP53*, que normalmente responderían a lesiones en el DNA activando la muerte celular. Los estudios realizados, revelan que hay 10 veces menos genes afectados por cambios cromosómicos que por mutaciones puntuales. Así pues, aunque las alteraciones cromosómicas son mas frecuentes en las células cancerosas estas no parecen en su mayoría tener mucho efecto en el proceso de la tumorigénesis.

Impacto de la Genómica del cáncer en su tratamiento

El reconocimiento de que ciertos tumores contienen mutaciones activadoras en genes *driver* que codifican para proteína quinasas ha permitido el desarrollo de una serie de nuevos fármacos inhibidores de proteína quinasas que tienen a estas como dianas terapéuticas. Ejemplos de esto son los inhibidores de quinasas EGFR, los inhibidores de ALK y los inhibidores específicos de BRAF. Antes de instituir un tratamiento con estos agentes es necesario determinar si el cáncer del paciente en cuestión contiene las mutaciones sensibles a estos fármacos. Así por ejemplo, una fracción de pacientes con cáncer de pulmón presentan mutaciones de EGFR o traslocaciones de ALK, y sólo estos pacientes podrán, al menos en principio, responder a ellos. Por el contrario, el tratamiento de pacientes de cáncer de pulmón que no presentan esas alteraciones genéticas con dichos productos no sería eficaz, sino que se podrían presentar efectos secundarios de tipo tóxico, mientras que sus tumores continúan progresando.

Una segunda consideración se refiere a los efectos secundarios y metabolismo de los agentes terapéuticos. En la actualidad la dosis de los fármacos empleados en el tratamiento del cáncer, esta basada en el tamaño del paciente (peso o área corporal). Pero el cociente terapéutico de los fármacos anticancerosos

(el cociente entre la concentración que produce efectos secundarios y la concentración necesaria para matar las células tumorales) es baja, sobre todo en el caso de los tratamientos convencionales no dirigidos. Pequeños cambios en las concentraciones circulantes de estos fármacos pueden tener gran importancia entre la reducción sustancial del tumor y efectos colaterales intolerables. El conocimiento del estado de los genes que codifican los enzimas que metabolizan dichos fármacos podría mejorar sustancialmente los resultados del tratamiento, al informar sobre la dosificación mas adecuada. Idealmente este conocimientos de los genes debe ir acompañado de medidas farmacocinéticas de las concentraciones de fármacos en cada paciente.

Genómica del cáncer y otros modos de reducir la mortalidad

Cuando pensamos en la erradicación del cáncer pensamos, por lo general, en la curación de los casos avanzados, es decir, de aquellos que no pueden ser curados por cirugía porque han metastatizado. Sin embargo, esta es una curiosa manera de pensar acerca de una enfermedad que difiere de otras. Así, cuando pensamos en enfermedades cardiovasculares o infecciosas, consideramos maneras de prevenir la enfermedad en lugar de pensar sólo en curar con fármacos, las situaciones mas avanzadas. En la actualidad, no hay medios mejores para curar la polio o el infarto masivo de miocardio que había hace mil años. Sin embargo, podemos prevenir estas enfermedades con eficacia (vacunas) o reducir su incidencia (cambios en la dieta , estatinas) o mitigar su severidad (stents, agentes trombolíticos) y por tanto, conseguir un impacto importante en su morbilidad y mortalidad.

Esta aproximación de tratar sólo de la curación del cáncer avanzado podría haber sido lógica hace 50 años, cuando la patogénesis molecular del cáncer era misteriosa. Pero esta idea no es aceptable en la actualidad. Conocemos con precisión las causas del cáncer: una serie secuencial de alteraciones en genes bien definidos que alteran la función de un número pequeño de rutas de señalización celular. Mas aún, sabemos que este proceso tarda décadas en desarrollarse y que el estado incurable, metástasis, tiene lugar unos pocos años antes que la muerte. En otras palabras, del millón de personas que muere de cáncer cada año, la mayoría de ellos muere sólo porque sus cánceres no fueron detectados en el primer 90% de su desarrollo, cuando era posible su eliminación por la cirugía.

El nuevo conocimiento de la genómica del cáncer permite la búsqueda de tratamientos mas eficaces en el estado avanzado, pero no ha trascendido a otros campos de la lucha contra el cáncer. Un conjunto limitado de genes *drivers* y de rutas de señalización es responsable de la mayor parte de los cánceres, y estos, ofrecen un gran potencial para el diagnóstico temprano. Los genes, los productos que codifican estos genes y los productos finales de las rutas afectadas, son en principio detectables de muchas maneras, incluyendo análisis de fluidos

corporales, como orina en los cánceres genito-urinarios, esputos en el cáncer de pulmón, heces en cánceres gastrointestinales etc. Igualmente interesantes, son las posibilidades que ofrecen las nuevas técnicas de la imagen a nivel molecular, las cuales, no indican la presencia de un cáncer sino que revelan su posición y extensión. Por otra parte, la investigación sobre la relación entre determinados influencias del ambiente (dieta y estilo de vida) y las alteraciones genéticas en cáncer es escasa, a pesar de su potencial en la toma de medidas preventivas.

Las razones por las que la sociedad invierte tanto en las investigaciones sobre la curación de cánceres avanzados en relación con la prevención y el diagnóstico temprano son complejas. Desde un punto de vista técnico el desarrollo de métodos nuevos y mejores para la detección temprana y la prevención no es fácil, pero no hay razón para asumir que sea más difícil que el desarrollo de nuevas terapias destinadas al tratamiento de la enfermedad metastásica.

Creemos que las muertes por cáncer podrían reducirse por más del 75% en las próximas décadas, pero esta reducción vendrá sólo si se realizan grandes esfuerzos en el campo de prevención y detección temprana.

Conclusiones

1. La mayoría de los cánceres humanos son causados por un número pequeño (2-8) de alteraciones secuenciales que se desarrollan en el curso de 20-30 años.
2. Cada una de estas alteraciones causa una ventaja selectiva en el crecimiento de la célula en la que reside.
3. Hay aproximadamente 140 genes cuyas mutaciones intragénicas contribuyen al cáncer. Hay probablemente otros genes que son alterados por mecanismos epigenéticos que también causan una ventaja selectiva en el crecimiento, pero su identificación está mucho menos avanzada.
4. Los genes *driver* identificados, funcionan a través de una docena de rutas de señalización celular que regulan los tres procesos celulares básicos: determinación del tipo celular, supervivencia y mantenimiento de la integridad del genoma.
5. Cada tumor individual es diferente, con respecto a sus alteraciones genéticas, pero las rutas de señalización afectadas en diferentes tumores son las mismas.
6. Existe siempre una heterogeneidad genética entre las células de un tumor individual que puede afectar a la respuesta terapéutica.
7. En el futuro, el mejor plan para manejar un paciente con cáncer vendrá de la información proporcionada por el conocimiento del genoma de la línea germinal del paciente y del genoma de su tumor.
8. La información de los estudios sobre genómica del cáncer pueden también ser empleados para mejorar los métodos de prevención y detección temprana del cáncer, lo que tendrá un gran impacto en reducir la morbilidad y la mortalidad.