

Desregulación de la apoptosis en tumores colorrectales y hepáticos

ISABEL FABREGAT Y JOAN GIL

Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL). Universitat de Barcelona. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

La homeostasia celular está regulada por el equilibrio entre las velocidades de proliferación, diferenciación y muerte celular (apoptosis). En el cáncer este equilibrio está alterado debido a un aumento en la proliferación celular y una disminución de la apoptosis¹. Desde un punto de vista molecular estas alteraciones se adquieren por mutaciones de genes implicados en el control de estos procesos. Las células que adquieren estas mutaciones tienen ventaja y sus descendientes son seleccionadas. Los defectos en los mecanismos de apoptosis permiten a las células tumorales sobrevivir más allá de su vida fisiológica, obviar la necesidad de factores extracelulares para la supervivencia, obtener protección frente a la hipoxia y el estrés celular que provoca el tumor, disponer de más tiempo para acumular alteraciones genéticas, evitar que el sistema inmune elimine a las células tumorales y adquirir resistencia a la quimioterapia y a la radioterapia.

Principales vías de inducción de apoptosis

El mecanismo central de la apoptosis consiste en la activación de una familia de proteasas denominadas caspasas^{2,3}. Estas proteasas se activan jerárquicamente, de forma que las caspasas iniciadoras proteolizan y activan a las caspasas efectoras que a su vez proteolizan a otras proteínas, produciendo los cambios morfológicos y bioquímicos característicos de la apoptosis. La activación de las caspasas iniciadoras se produce esencialmente por 2 vías: la vía de los receptores de la muerte o extrínseca y la vía mitocondrial o intrínseca (fig. 1).

La vía apoptótica de receptores de muerte se inicia por unión de ligandos extracelulares (como TNF- α , FasL o TRAIL) a sus receptores de la superficie celular (TNFR1, Fas, DR4 o DR5). Esta unión induce la activación de la caspasa 8, que a su vez actúa sobre las caspasas efectoras. Además, la caspasa 8 proteoliza a BID, y la forma proteolizada tBID es capaz de inducir la salida de factores mitocondriales proapoptóticos.

La vía mitocondrial se desencadena como respuesta a una gran variedad de estímulos, internos o externos, y está regulada por proteínas de la familia de Bcl-2 que controlan la salida de algunas proteínas del espacio intermembranal mitocondrial al citosol^{4,5}. Una de estas proteínas es el citocromo C, que una vez en el citosol se une a la proteína Apaf-1 induciendo su oligomerización junto a la caspasa 9 y la formación de un complejo heptamérico, el apoptosoma, donde se activa la caspasa 9, que a su vez activa a las caspasas efectoras.

Las proteínas de la familia de BCL-2 se asocian entre sí a través de sus dominios BH para formar homo y/o heterocomplejos que tienen distintos papeles en el proceso de permeabilización de la membrana mitocondrial externa y la salida del citocromo C^{4,5}. Según el modelo más actual, las proteínas proapoptóticas BAX o BAK son esenciales para la salida del citocromo C. Las proteínas antiapoptóticas, como BCL-2 o BCL-X_L, inhiben a Bax/Bak. Finalmente, las proteínas propapoptóticas con un solo dominio BH3 inhiben a las proteínas antiapoptóticas de la familia de BCL-2. La mayoría de estímulos apoptóticos no alteran los valores de proteína de BAX y BAK. La activación de Bax/Bak es mediada por la regulación de los miembros BH3-only de la familia a través de mecanismos transcripcionales o postranscripcionales. Así, Puma es una diana transcripcional cuando la vía *p53* se activa.

Puntos clave

- La homeostasia celular está regulada por el equilibrio entre las velocidades de proliferación, diferenciación y muerte celular (apoptosis). En el cáncer este equilibrio está alterado debido a un aumento en la proliferación celular y una disminución de la apoptosis.
- El mecanismo central de la apoptosis consiste en la activación de una familia de proteasas denominadas caspasas, que se produce esencialmente por 2 vías: la vía de los receptores de muerte (extrínseca) y la vía mitocondrial (intrínseca).
- Todos los tumores gastrointestinales y hepáticos tienen alteraciones en genes implicados en la apoptosis. Disminución en la vía apoptótica mediada por *Fas*, alteraciones en la expresión de diferentes miembros de la familia BCL-2 y mutaciones en *p53* son algunas de las alteraciones más frecuentes.
- La inflamación crónica es un factor clave de predisposición al cáncer. Numerosos datos epidemiológicos y experimentales sugieren que la ciclooxigenasa-2 promueve el crecimiento de los cánceres gastrointestinales y hepáticos y que la inhibición de la apoptosis es uno de los mecanismos por los que se consigue este efecto.

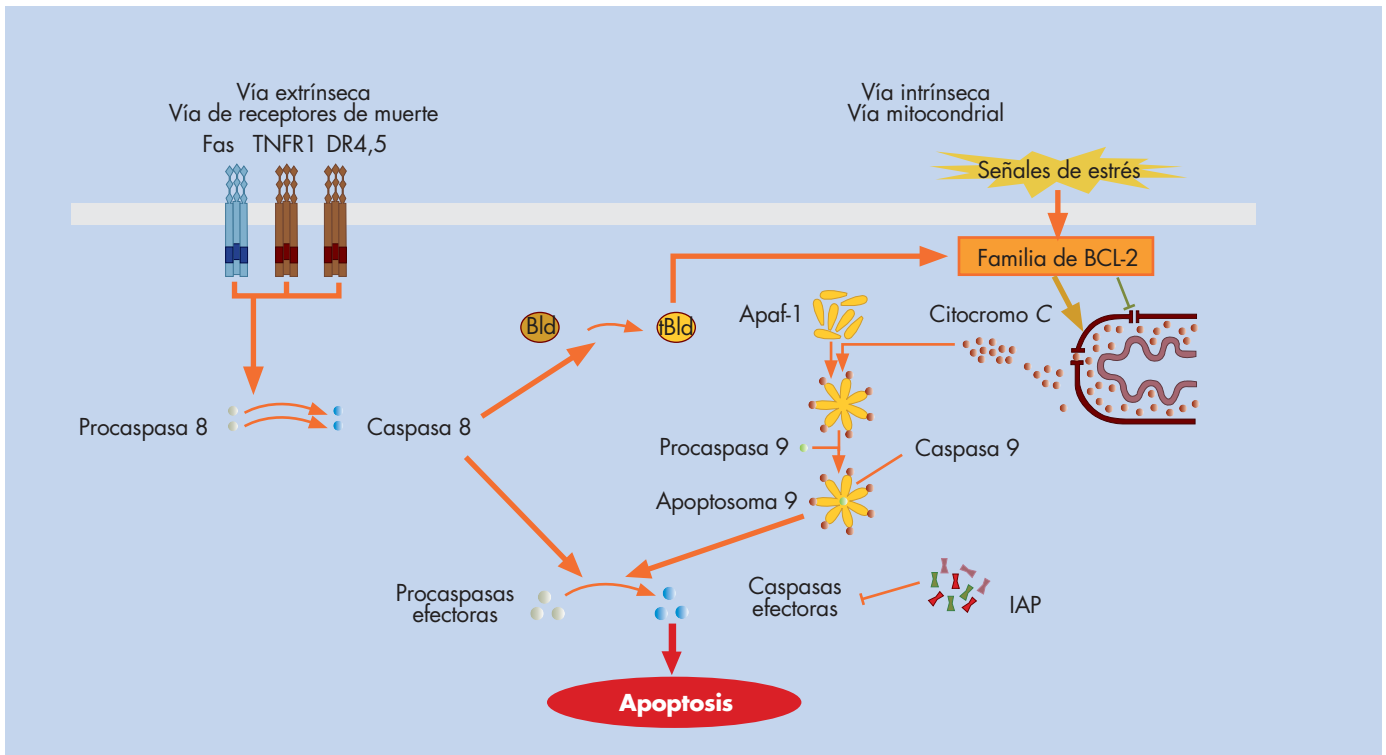


Figura 1. Principales vías de activación de las caspasas en la apoptosis.

Alteración de proteínas reguladoras de la apoptosis en tumores colorrectales y hepáticos

Diferentes miembros de la maquinaria de apoptosis están frecuentemente mutados en el cáncer colorrectal. La mayoría de las líneas de cáncer colorrectal son resistentes a la apoptosis inducida por Fas⁶. El mecanismo de pérdida de Fas y de resistencia no está claro, pero en muchos casos no se debe a alteraciones en el receptor Fas, sino en otras proteínas⁷. En el cáncer colorrectal se observa a menudo la sobreexpresión de BCL-2 y la baja expresión y/o mutación de Bak, Bax u otros miembros proapoptóticos de la familia de BCL-2⁷. Más del 50% de los adenocarcinomas que muestran defectos en los mecanismos de reparación del ADN, presentando, por ello, el denominado “fenotipo mutador”, tienen mutaciones en BAX^{8,9}. En este tipo de tumores también se han descrito mutaciones que alteran la pauta de lectura de los genes de Fas y Apaf-1¹⁰. La sobreexpresión de survivina, un miembro de la familia de los inhibidores de caspasas IAP (*inhibitors of apoptosis*), también se ha descrito en más de un 60% de los pacientes con cáncer colorrectal^{6,11}, y los valores altos de survivina correlacionan con una evolución desfavorable.

Una alteración muy frecuente observada en el carcinoma hepatocelular (HCC) asociado a hepatitis B y C es la disminución en la expresión de Fas, coincidente con pérdida de p53 (v. apartado siguiente) o sobreactivación de moléculas que contrarrestan sus efectos proapoptóticos, como vías de transducción de señales de supervivencia celular¹². Además, muchas de las alteraciones genéticas observadas en HCC conducen a un desequilibrio en los miembros de la familia BCL-2. Así,

BCL-X_L y MCL-1 están sobreexpresados en un gran número de tumores^{13,14}. Por el contrario, los miembros proapoptóticos de la familia (BAX, BCL-X_S, BID) muestran una expresión disminuida^{15,16}. Recientemente, se ha puesto en evidencia la relevancia de alteraciones en la ruta apoptótica del factor de crecimiento transformante tipo beta (TGF-β) en la inducción de un proceso de hepatocarcinogénesis¹⁷. TGF-β es uno de los principales reguladores fisiológicos de la muerte de los hepatocitos¹⁸, que juega un papel esencial durante el desarrollo y la regeneración hepática¹⁹. Las alteraciones en la ruta de transducción de sus señales proapoptóticas podrían contribuir a la progresión del HCC²⁰.

Desregulación de la red de p53 en cáncer colorrectal y hepático

El gen p53 está mutado en la mitad de los tumores humanos, y la vía de p53 está alterada en un porcentaje aún mucho más importante (quizás en todos ellos)²¹. Entre los genes de la vía de p53 que se han descrito mutados en cáncer se encuentran: proteincinasas de p53 (ATM, ATR y DNA-PK), el regulador negativo de p53 Mdm2, el inhibidor de este último (ARF), genes proapoptóticos controlados transcripcionalmente por p53 (p. ej., BAX, Fas, DR5 y Apaf-1) y la fosfatasa de lípidos PTEN que inhibe a la proteína quinasa Akt (fig. 2).

El p53 no se expresa o está mutado en el 85% de todos los cánceres de colon. Las mutaciones de p53 aparecen tarde en la progresión del cáncer de colon en el estadio de transición de adenoma a carcinoma⁶. Igualmente, entre las alteraciones más comunes observadas en HCC se encuentran mutaciones en p53²².

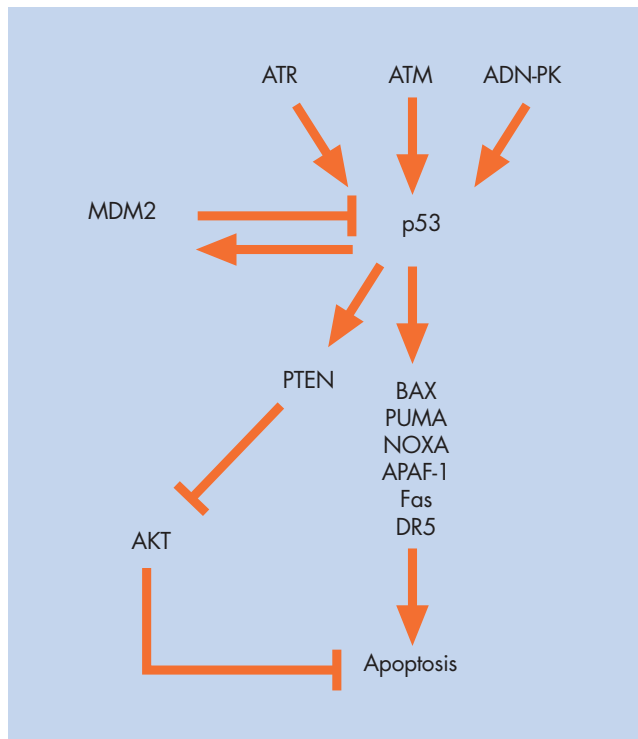


Figura 2. Esquema de la vía de p53 en el control de la apoptosis.

La mayoría de los fármacos utilizados actualmente en la terapia del cáncer (15 de los 17 fármacos esenciales según la Organización Mundial de la Salud) inducen la activación de p53. Por tanto, las mutaciones de p53 o de genes importantes de la vía confieren a las células tumorales resistencia a la quimioterapia. Uno de los mecanismos involucrados en la estabilización de p53 en respuesta al daño del ADN es su fosforilación por la proteína ATM (*ataxia telangiectasia mutata*). La ATM se encuentra inactivada en algunos tipos de cáncer, siendo éste un mecanismo alternativo para inactivar la vía de p53. Los tumores con alteraciones en la vía de p53 no responderán adecuadamente a la quimioterapia genotóxica.

Relación entre inflamación, cáncer y resistencia a la apoptosis

La relación entre inflamación y cáncer colorrectal o hepático se ha establecido desde hace algunos años. Los tumores frecuentemente se desarrollan en un ambiente rico en citocinas proinflamatorias como TNF- α , interleucina (IL)-1, IL-6, especies reactivas de oxígeno, prostaglandinas, etc., las cuales promueven daño en el ADN, angiogénesis, inhibición de la apoptosis e invasión celular²³. La inflamación crónica es un factor clave de predisposición al cáncer colorrectal; NF- κ B es uno de los factores de transcripción involucrados en la respuesta inflamatoria, y su activación induce la expresión de miembros antiapoptóticos de la familia de BCL-2, como BCL-X_L, y diferentes miembros de la familia de las IAP^{24,25}. Numerosos datos epidemiológicos y experimentales sugieren que la ciclooxigenasa-2 (COX-2), que cataliza la reacción inicial de la biosíntesis de prostaglandinas, y cuya expresión está inducida

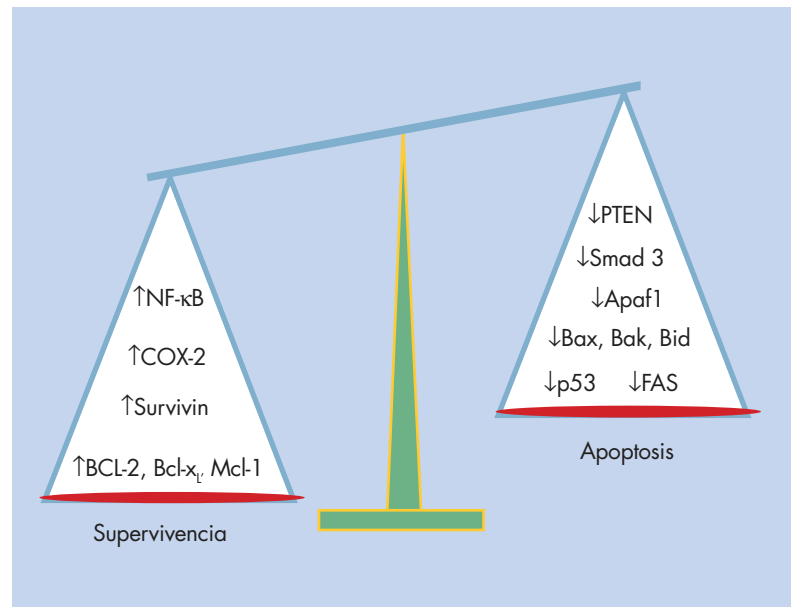


Figura 3. El balance supervivencia/apoptosis está desregulado en el cáncer colorrectal y hepático.

por estímulos proinflamatorios, promueve el crecimiento de los cánceres gastrointestinales y hepáticos, y que la inhibición de la apoptosis es uno de los mecanismos por los que se consigue este efecto^{11,26,27}. Por lo tanto, la inhibición farmacológica selectiva de COX-2 podría ser efectiva en el tratamiento de este tipo de tumores.

Conclusiones

Un número importante de alteraciones moleculares descritas en la progresión del cáncer colorrectal y hepático comprometen el balance entre supervivencia y apoptosis. Algunas moléculas proapoptóticas están disminuidas o inactivadas, y además el balance entre muerte y supervivencia está también alterado por la sobreactivación de señales antiapoptóticas (fig. 3). La mayoría de los fármacos utilizados actualmente en la terapia del cáncer inducen la activación de la muerte de las células tumorales. Por tanto, las alteraciones en la expresión de genes revelantes en la regulación de la apoptosis pueden conferir a las células tumorales resistencia a la quimioterapia.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

1. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell*. 2000;100:57-70.
2. ● Meier P, Vousden KH. Lucifer's labyrinth—ten years of path finding in cell death. *Mol Cell*. 2007;28:746-54.
3. ● Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nature Reviews Mol Cell Biol*. 2008;9:231-41.

4. ●● Mott JL, Gores GJ. Piercing the armor of hepatobiliary cancer: Bcl-2 homology domain 3 (BH3) mimetics and cell death. *Hepatology*. 2007;46:906-11.
5. ● Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nature Reviews* 2008;9:47-59.
6. ●● Huerta S, Goulet EJ, Livingston EH. Colon cancer and apoptosis. *Am J Surg*. 2006;191:517-26.
7. O'Connell J, Bennett MW, Nally K, Houston A, O'Sullivan GC, Shanahan F. Altered mechanisms of apoptosis in colon cancer: Fas resistance and counterattack in the tumor-immune conflict. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;910:178-92.
8. Rampino N, Yamamoto H, Ionov Y, Li Y, Sawai H, Reed JC, et al. Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype. *Science*. 1997;275:967-9.
9. Gil J, Yamamoto H, Zapata JM, Reed JC, Perucho M. Impairment of the proapoptotic activity of Bax by missense mutations found in gastrointestinal cancers. *Cancer Research*. 1999;59:2034-7.
10. Yamamoto H, Gil J, Schwartz S Jr, Perucho M. Frameshift mutations in Fas, Apaf-1, and Bcl-10 in gastro-intestinal cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Cell Death Differ*. 2000;7:238-9.
11. Watson AJM. An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2006;57:107-21.
12. ● Fabregat I, Roncero C, Fernández M. Survival and apoptosis: a dysregulated balance in liver cancer. *Liver Int*. 2007;27:155-62.
13. Takehara T, Liu X, Fujimoto J, Friedman SL, Takahashi H. Expression and role of Bcl-xL in human hepatocellular carcinomas. *Hepatology*. 2001;34:55-61.
14. Sieghart W, Losert D, Strommer S, Cejka D, Schmid K, Rasoul-Rockenschaub S, et al. Mcl-1 overexpression in hepatocellular carcinoma: a potential target for antisense therapy. *J Hepatol*. 2006;44:151-7.
15. Beerheide W, Tan YJ, Teng, E, Ting AE, Jedpiyawongse A, Srivatanakul P. Down-regulation of proapoptotic proteins Bax and Bcl-X(S) in p53 overexpression hepatocellular carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;273:54-61.
16. Chen GG, Lai PB, Chan PK, Chak EC, Yip JH, Ho RL, et al. Decreased expression of Bid in human hepatocellular carcinoma is related to hepatitis B virus X protein. *Eur J Cancer*. 2001;37:1695-702.
17. Yang YA, Zhang GM, Feigenbaum L, Zhang YE. Smad3 reduces susceptibility to hepatocarcinoma by sensitizing hepatocytes to apoptosis through downregulation of Bcl-2. *Cancer Cell*. 2006;9:445-57.
18. Herrera B, Álvarez AM, Sánchez A, Fernández M, Roncero C, Benito M, et al. Reactive oxygen species (ROS) mediates the mitochondrial-dependent apoptosis induced by transforming growth factor (beta) in fetal hepatocytes. *FASEB J*. 2001;15:741-51.
19. Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor beta and the liver. *Hepatology*. 2001;34:859-67.
20. Caja L, Ortiz C, Bertrán E, Murillo MM, Miró-Obradors MJ, Palacios E, et al. Differential intracellular signalling induced by TGF-beta in rat adult hepatocytes and hepatoma cells: implications in liver carcinogenesis. *Cell Signal*. 2007;19:683-94.
21. Toledo F, Wahl GM. Regulating the p53 pathway: in vitro hypotheses, in vivo veritas. *Nature Reviews Cancer*. 2006;6:909-23.
22. ● Hussain SP, Schwank J, Staib F, Wang XW, Harris CC. TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology of pathogenesis of liver cancer. *Oncogene*. 2007;26:2166-76.
23. Schottelius AJ, Dinter H. Cytokines, NF-kappaB, microenvironment, intestinal inflammation and cancer. *Cancer Treat Res*. 2006;130:67-87.
24. Karin M. NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Mol Carcinog*. 2006;45:355-61.
25. Arsuru M, Cavin LG. Nuclear factor-kB and liver carcinogenesis. *Cancer Letters*. 2005;229:157-69.
26. Sinicropo FA. Targeting cyclooxygenase-2 for prevention and therapy of colorectal cancer. *Mol Carcinog*. 2006;45:447-54.
27. Cervelló M, Montalto G. Cyclooxygenases in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2006;12:5113-21.

Bibliografía recomendada

Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nature Reviews Mol Cell Biol*. 2008;9:231-41.

Excelente revisión muy actualizada acerca de los mecanismos de muerte celular programada. Comenta ambos modelos, extrínseco e intrínseco, e incluye esquemas muy didácticos que ayudan a entender el conocimiento actual de estos procesos tan complejos.

Mott JL, Gores GJ. Piercing the armor of hepatobiliary cancer: Bcl-2 homology domain 3 (BH3) mimetics and cell death. *Hepatology*. 2007;46:906-11.

El Dr. Gores es uno de los científicos con mayor reconocimiento internacional en el campo de la regulación de la apoptosis en el hígado. En esta revisión nos ofrece una descripción muy amena y fácil de leer acerca del importante papel de la familia BCL-2

de reguladores de apoptosis y sus alteraciones en el cáncer, en particular en el hígado.

Huerta S, Goulet EJ, Livingston EH. Colon cancer and apoptosis. *Am J Surg*. 2006;191:517-26.

Excelente revisión donde se recoge la enorme relevancia de la desregulación de la apoptosis en el cáncer colorrectal, con énfasis en los mecanismos que conducen a la resistencia a la quimioterapia y los que permiten evadir el sistema inmune.

Fabregat I, Roncero C, Fernández M. Survival and apoptosis: a dysregulated balance in liver cancer. *Liver Int*. 2007;27:155-62.

Revisión actual de las diferentes alteraciones moleculares que conducen a resistencia a la apoptosis en el cáncer hepático. Con una introducción de mecanismos básicos de apoptosis, se hace énfasis no sólo en la desregulación de señales proapoptóticas, sino también en la sobreactivación de señales de supervivencia que muestran muchos carcinomas hepatocelulares humanos.