

TOT EL QUE FALLA EN LA CÈL·LULA NEOPLÀSICA: EPIGENÈTICA, TELÒMERS, BIOMARCADORS... QUÈ HI FAN?

Griselda Estragué i Bartomeu.
Hospital Sant Jaume Calella.

INTRODUCCIÓ

Totes les cèl·lules neoplàsiques, tenen en comú, haver patit mutacions o canvis a l'ADN que afecten a gens implicats en el cycle cel·lular, ja sigui en la mitosi o en l'apoptosi, alterant la capacitat de multiplicar-se i/o l'obligació de morir de la cèl·lula, quan les circumstàncies ho exigeixen.

A les primeres mutacions que es produeixen a la cèl·lula neoplàsica, se n'hi afegeixen d'altres que afecten diversos aspectes, com la resistència al sistema immunitari, el poder angiogènic, la capacitat de migració, etc. Aquestes mutacions poden ser congènites o adquirides durant la vida de l'individu, es deuen a agents tòxics, agents infecciosos o radiacions.

Les mutacions són canvis de diversos tipus a l'ADN que es tradueixen en proteïnes anòmales amb funcionalitat alterada (Són els anomenats biomarcadors). Descobrir noves mutacions i biomarcadors en els diferents tumors permet caracteritzar-los i classificar-los. Per als pacients, estudiar mutacions i biomarcadors és imprescindible, sobre tot, si tenen tractament específic associat. També permet facilitar el diagnòstic, predir-ne el comportament i assajar nous tractaments.

Repassar el cycle cel·lular permet constatar que la màxima prioritat dels mecanismes cel·lulars és l'estabilitat i preservació de l'ADN. Però també hi ha altres fenòmens i processos en la vida de la cèl·lula implicats, d'alguna manera, en el cycle cel·lular i per tant involucrats en la transformació neoplàsica.

DESENVOLUPAMENT

• El cycle cel·lular

És un conjunt ordenat de successos que conclouen en el creixement de la cèl·lula i la divisió en dues cèl·lules filles. Segons el tipus de cèl·lula, pot durar des d'unes poques hores fins a uns quants anys.

En divideix en dos períodes diferents

♦ Interfase: Ocupa la major part del cycle cel·lular, hi ha una gran activitat metabòlica i es duplica l'ADN. Es divideix en G1, S i G2.

♦ Mitoisi: És molt més curt, compren el repartiment equitatiu de l'ADN, i la citocinesi o divisió cel·lular, per donar lloc a dues cèl·lules germanes idèntiques. (Fig.1)

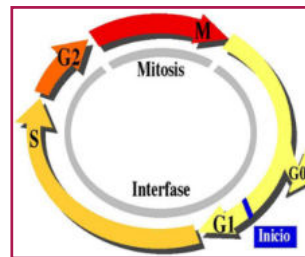


Figura 1. Fases del cycle cel·lular

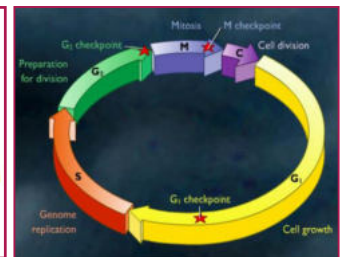


Figura 2. Fases del cycle cel·lular i punts de control o checkpoints.

Fase G1 : Del nucli cel·lular es transcriuen molts ARN missatgers cap als ribosomes del citoplasma, amb la finalitat d'augmentar la mida de la cèl·lula. Es formen estructures noves com els microtúbuls; augmenten estructures membranoses implicades en la síntesi de proteïnes, hidrats de carboni i lípids, com són el reticle endoplasmàtic, l'aparell de Golgi i les mitocondries.

Des de G1 les cèl·lules poden passar a la fase G0 o fase de quiescència on es diferencien i no entren en mitosi. Estaran a la fase G0 fins que moren (el que s'anomena apoptosi o mort cel·lular programada) o fins que són estimulades per factors de creixement, o agents mitògens i tornen a la fase G1.

Fase S: S'inicia la duplicació de l'ADN. Se sintetitzen les histones, proteïnes que permetran l'enrotllament i condensació dels filaments d'ADN.

Fase G2: Tenen lloc els últims preparatius per a la divisió cel·lular. L'ADN s'enrotlla sobre unes histones i aquestes sobre altres histones diferents, per compactar

TOT EL QUE FALLA EN LA CÈL·LULA NEOPLÀSICA

al màxim l'ADN. El resultat són estructures en forma de X (les dues cromàtides).

En els canvis de fase hi ha tres punts de control o checkpoints que depenen de dues famílies de proteïnes: Les cinases (CDK) i les ciclines que les activen, formant els factors promotors (RPF, MPF, etc.) capaços d'activar el cycle cel·lular. Les ciclines es produeixen i degraden cíclicament un cop iniciat el pas a la següent fase.(Fig.2)

- **Checkpoint G1 o punt de restricció:** Avalua la mida de la cèl·lula, si l'avaluació és negativa, s'ha de quedar a la fase G0 o fase de quiescència. Si hi ha danys a l'ADN, s'acumula proteïna p53 que produeix l'aturada del cycle cel·lular i la inducció al suïcidi (mort cel·lular programada) de la cèl·lula danyada.

- **Checkpoint G2 :** Avalua l'èxit de la replicació del DNA, si és correcta s'inicia la mitosi, si els danys a l'ADN són importants s'activa el mecanisme de la p53.

- **M checkpoint:** Avalua si el fus s'ha format correctament i si els cromosomes estan alineats a la placa equatorial. Si és correcte, permet el pas cap a la citocinesi o fase C, apareixent les dues cèl·lules filles idèntiques.

• Proteïnes que intervenen en el control del cycle cel·lular:

- **Factors de creixement o Growth Factors (GF):** Estimulen la proliferació cel·lular, són la unió de ciclines i cinases. Treuen les cèl·lules de G0 i les retornen a G1.

- **Receptors de factors de creixement:** Complexos proteics situats a la membrana, reconeixen els factors de creixement.

- **Transmissors de senyal:** Conjunts de proteïnes situats a la cara interna de la membrana, reben els estímuls i els transmeten al nucli. Sovint són complexos proteics amb nombrosos intermediaris.

- **Reguladors de la transcripció nuclear:** Inicien la transcripció dels ARN missatgers per sintetitzar proteïnes.

- **Reguladors de cycle cel·lular:** Coordinen el pas per les diferents fases del cycle cel·lular: ciclines i cinases.(Fig.3)

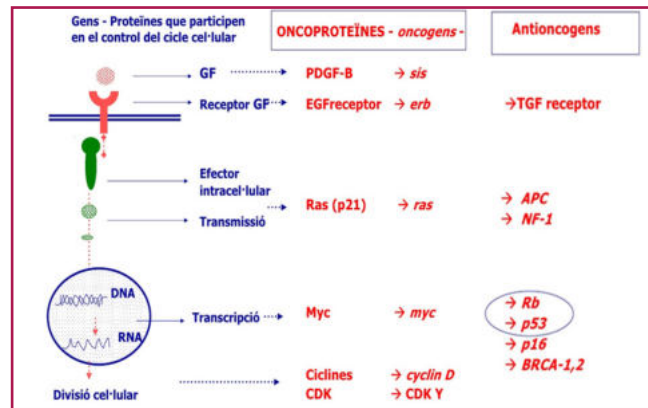


Fig.3 Proteïnes que participen en el cycle cel·lular, ubicació i funció. Exemples d'oncoproteïnes- oncogens i antiproteïnes-antioncogens en les diferents funcions

• Oncogens, antioncogens, gens reguladors i gens reparadors

Els gens mutats, responsables de les proteïnes alterades, es divideixen en quatre grups:

- 1) Protooncogens: ONCOGENS
- 2) Gens inhibidors del creixement cel·lular o gens supressors de tumors: ANTIONCOGENS
- 3) Gens reguladors de l'apoptosi
- 4) Gens reguladors de la reparació de l'ADN

- **Protooncogens i oncogens:** A la cèl·lula normal els protooncogens codifiquen proteïnes relacionades amb la proliferació i diferenciació cel·lular. Són imprescindibles en períodes embrionaris, regeneració i renovació tissular, cicatrització, etc. En les cèl·lules neoplàsiques els protooncogens pateixen mutacions convertint-se en oncogens, en aquest cas la seva funció està incrementada, sobreestimulant el creixement i la divisió cel·lular.

- **Gens inhibidors: Antioncogens:** En la cèl·lula normal la seva funció és inhibir el creixement i la divisió cel·lulars, són supressors de tumors. En les cèl·lules neoplàsiques, degut a mutacions, la seva funció està suprimida, disminuïda o alterada, no inhibeixen el creixement ni la divisió de les cèl·lules tumorals.

- **Gens reguladors de l'apoptosi:** Estimulen o inhibeixen l'apoptosi. Per ex: P53 és pro-apoptòtica i c-myc és anti-apoptòtic.(Fig.3)

- **Gens reparadors de l'ADN:** Les cèl·lules normals tenen gran capacitat per reparar l'ADN lesionat i prevenir mutacions en gens que regulen el creixement cel·lular. Els gens reparadors en si no són

oncogènics però, quan estan alterats, no reparen les mutacions de gens implicats en el procés de divisió cel·lular.

Una de les noves determinacions genètiques en la caracterització dels tumors és la inestabilitat dels microsatèl·lids. Els microsatèl·lids són seqüències petites d'ADN, molt repetitives, que varien en cada individu. Quan hi ha defectes a la reparació de l'ADN s'acumulen gran quantitat de mutacions en aquestes seqüències que es relacionen amb l'aparició i el comportament d'alguns tumors.

• **Manteniment dels telòmers**

Els telòmers són seqüències repetitives d'ADN situades als extrems del cromosomes que s'escurcen en cada divisió cel·lular (La majoria de les cèl·lules es poden dividir entre 60 i 70 vegades, després perden la capacitat de divisió). A les cèl·lules germinals l'escurçament dels telòmers s'evita gràcies a l'enzim telomerasa. Entre un 85-95 % de les neoplàsies són capaces de mantenir activa la telomerasa per allargar el número de mitosis. (Fig.4)

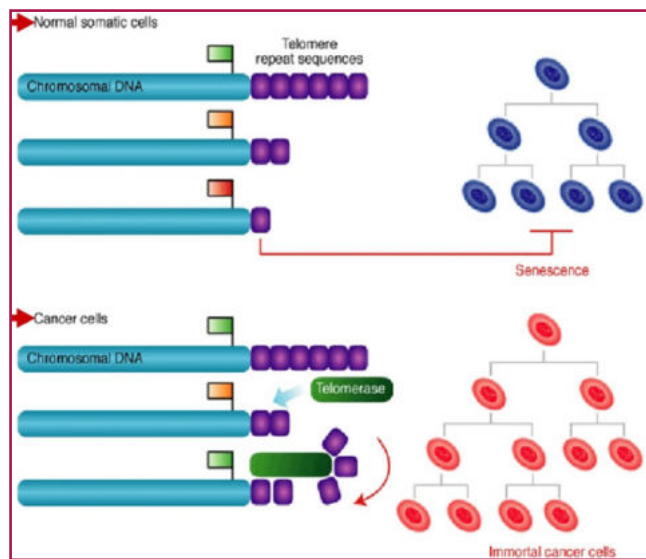


Fig.4 Pèrdua de telòmers en cèl·lules normals i en cèl·lules neoplàsiques amb l'acció de la telomerasa

• **Fenòmens epigenètics**

Les molècules químiques anomenades "senyals epigenètics" se situen sobre les histones, activant o desactivant el gen corresponent.

Els grups acetil, provoquen que les histones se separin entre si i es permet l'expressió dels gens, a la inversa, els grups metil provoquen que les histones s'ajuntin i no es permet l'expressió dels gens.(Fig.5)

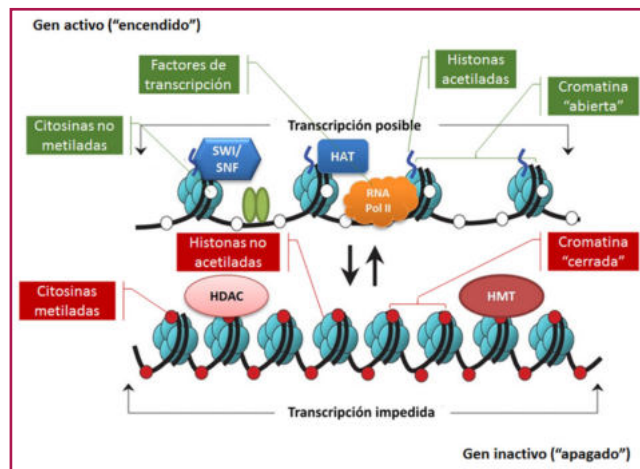


Fig.5 Senyals epigenètics: acció dels grups metil i acetil sobre les histones que empaqueten l'ADN.

Factors de l'entorn poden influir en el grau de metilació o acetilació d'un determinat gen, incrementant o disminuint la probabilitat que s'expressi.

Hi ha un estudi del Dr. Esteller que determina el grau de metilació de l'ADN en bessons idèntics amb hàbits nutricionals i activitat física diferents, demostrant que hi ha diferències significatives en el grau de metilació entre ells.

Factors externs com el tabac, l'alimentació, l'entorn natural i emocional, l'estrès, malalties mentals, diabetis, etc., sense necessitat de causar mutacions a l'ADN, modifiquen el grau de metilació o acetilació de determinats gens i per tant la seva expressió. Per això el grau de metilació és una determinació relativament novedosa important en l'avaluació del risc de patir determinats tumors.

• **Microambient tumoral: Cèl·lules immunitàries i fibroblasts**

Macròfags (Cèl·lules presentadores d'antígens): En condicions normals sintetitzen metal·loproteïnes que modifiquen l'entorn i regulen el creixement i migració de cèl·lules del sistema immunitari, aquestes mateixes funcions poden ajudar al desenvolupament tumoral, en especial ho fan els macròfags anomenats TAM (high tumor associated macrophage).

Molts tumors secreten factors que eviten que les cèl·lules presentadores d'antígens (CPA) i limfòcits T helpers reconguin les cèl·lules tumorals i alertin als limfòcits T citotòxics encarregats d'eliminar cèl·lules amb mutacions irreparables.

TOT EL QUE FALLA EN LA CÈL·LULA NEOPLÀSICA

Els fibroblasts del teixit estromal, poden patir canvis deguts substàncies de la matriu extracel·lular i a l'expressió de α -SMA (alfa-actina muscular lleugera) que els fa altament proliferatius, provocant desmoplàsia i afavorint el creixement tumoral.

• Microambient tumoral: Factors solubles, matriu extracel·lular i exosomes.

Nivells baixos d'oxigen (hipòxia). Generen radicals lliures mutagènics, alterant les cèl·lules veïnes i modificant substàncies del teixit sa.

Nivells baixos de glucosa. Consumida per fermentació, en grans quantitats, per les cèl·lules tumorals sovint amb glicòlisi ineficient, en conseqüència es generen condicions de pH àcides. Poden causar mutacions o inactivar cèl·lules i substàncies de l'entorn.

Les metal·loproteïnases són clau en la degradació de la matriu extracel·lular, que allibera factors de creixement, intensificant la migració cel·lular i alterant les interaccions cèl·lula/matriu.

Exosomes Són vesícules alliberades per cèl·lules normals i neoplàsiques. Transporten proteïnes i àcids nuclèics (sobre tot ARN missatger) a la resta d'organisme (Fig.6). Viatgen des del tumor primari fins a òrgans distants i alteren el comportament cel·lular. Poden fer que determinades àrees siguin aptes per al creixement de cèl·lules canceroses que venen del tumor primari. També poden alterar la resposta de les cèl·lules immunitàries.

Estan implicats en la resistència a la quimioteràpia, es lliguen a las cèl·lules malignes i poden expulsar els medicaments o utilitzar enzims hepàtics per a desintoxicar-se.

La biòpsia líquida és una altra de les noves determinacions que permet detectar ARN de les cèl·lules malignes presents als exosomes dispersos pel sèrum, abans que el tumor o la metastasi siguin visibles.

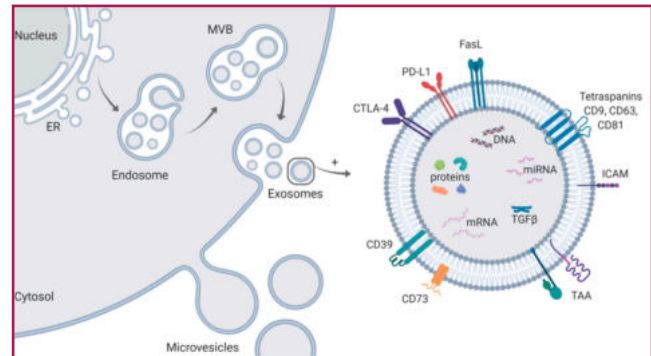


Figure 1. Schematic representation of exosome biogenesis and molecular cargo. Exosomes are formed through inward budding of the endosomal membrane resulting in the formation of multivesicular bodies (MVB). Upon fusion of MVBs with the plasma membrane, exosomes are released in the extracellular space. In contrast, microvesicles are formed by simple budding of the plasma membrane. The molecular cargo of exosomes consists of proteins, miRNA, mRNA, DNA, and lipids. On their surface, they carry the tetraspanins CD9, CD63, and CD81, commonly referred to as "exosomal markers," adhesion molecules (e.g., intercellular adhesion molecule ICAM) and—in case of TEX—tumor-associated antigens (TAA), which are specific to the cell of origin. Further, the presence of immune suppressive proteins such as CTLA-4, PD-L1, Fas-L, CD39, CD73, and TGFβ in HNSCC-derived exosomes has been reported. Figure is created with BioRender.

Fig.6 Representació esquemàtica de la biogènesi i càrrega molecular dels exosomes

CONCLUSIONS

La carcinogènesi té lloc quan s'acumulen alteracions genètiques, bioquímiques, cel·lulars, tissulars, i immunitàries. També s'alteren els diferents mecanismes de reparació.

Per aquesta raó, l'aparició de cèl·lules canceroses és un procés llarg en el temps, en el que han d'actuar diversos agents nocius i fallar diferents sistemes de control i reparació. Les tècniques de biologia molecular avancen per determinar els diferents biomarcadors, gens i molècules implicats en les diverses fases del procés de transformació neoplàsica. ■

Bibliografia

1. Fig.1 -Centre de Documentació i Experimentació en ciències. Projecte Biologia en context. https://apliense.xtec.cat/arc/sites/default/files/EI%20cicle%20cel.lular%20i%20control_guia.pdf
3. Fig.5-<http://entenderlaciencia.blogspot.com/2014/10/epigenetica-o-el-arte-de-poner-posits.html>
4. Fig.6-file:///C:/Users/gestr/Downloads/ijms-21-04072-with-cover.pdf
5. Hofmann, L., Ludwig, S., Vahl, J. M., Brunner, C., Hoffmann, T. K., & Theodoraki, M. N. (2020). The emerging role of exosomes in diagnosis, prognosis, and therapy in head and neck cancer. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 4072.