



## SECCIÓN XIV

# PROBLEMAS ACTUALES DE LA BIOQUÍMICA

### **Introducción a la sección**

**E**n esta sección presentamos la contribución de la bioquímica en la interpretación de algunos problemas médicos y biológicos de gran actualidad e interés.

En todos los capítulos se brinda una información inicial acerca de las características del problema que se trata, y, posteriormente, se presentan algunos experimentos sobresalientes en el campo de estudio considerado, con lo cual se aspira a demostrar el aporte de la bioquímica experimental en la solución de estos problemas.

Se ha tomado interés en explicar, si bien someramente, las premisas que en el orden del desarrollo de la tecnología de la bioquímica han posibilitado el estudio experimental de los problemas seleccionados. También se presentan algunas consideraciones acerca del posible desarrollo futuro del conocimiento dentro de cada problema.

#### **¿Qué cosa es un problema actual?**

La actualidad en la ciencia contemporánea es una característica muy relativa. Especialmente en el campo de las ciencias biomédicas, los progresos se producen con tal celeridad, que cada día un nuevo descubrimiento acapara la atención de los científicos, y de todos en general.

Por lo antes expuesto, la selección de problemas para esta sección pudiera parecer un tanto arbitraria. No obstante, se ha hecho con el ánimo de exponer los aspectos de

investigación básica y los de aplicación, si bien esta distinción resulta cada vez menos relevante. La selección incluye 6 problemas que —en mayor o menor medida— han experimentado avances significativos en la última década.

### **Características de la investigación bioquímica contemporánea**

La investigación bioquímica contemporánea se caracteriza, en gran medida, por el desarrollo acelerado de métodos más poderosos, para llevar a cabo el estudio de los componentes moleculares de los organismos vivos y su funcionamiento.

Otra característica está dada por el solapamiento de los métodos y procedimientos de la bioquímica con el de otras ciencias biológicas, como la genética y la inmunología. De hecho, muchas investigaciones se realizan por equipos multidisciplinarios.

En la interpretación de las investigaciones bioquímicas resulta cada vez más necesario tener en cuenta la organización celular en toda su complejidad, es decir, reconocer que las enzimas y otros componentes de la célula no se encuentran en un medio homogéneo, sino formando parte de estructuras con un alto nivel de organización (sección IV). Esto explica el surgimiento de nuevos términos y especializaciones, como el de la biología molecular, la topobioquímica y otros.

### **Acerca de los problemas seleccionados**

Sin dudas, el cáncer constituye un problema de gran interés médico, por su elevada letalidad y las limitaciones de los recursos terapéuticos disponibles para combatirlo.

Una de las dificultades fundamentales para avanzar en el tratamiento del cáncer es el desconocimiento existente acerca de las causas de esta afección. En el capítulo correspondiente a este tema se exponen algunos de los avances más recientes en este campo.

La forma de los seres vivos, el modo en que sus componentes moleculares determinan una organización espacial característica, se estudia en el capítulo de la morfogénesis. Se trata nada menos que de explicar cómo el “acervo” genético de los seres vivos, codificado en forma lineal en su ADN, puede explicar la estructura tridimensional de ellos en todos sus niveles de organización, desde sus componentes celulares hasta sus diferentes órganos y aparatos.

El sistema inmunológico constituye una adquisición evolutiva de gran importancia en los seres vivos, pues defiende al organismo contra los efectos nocivos de sustancias extrañas o gérmenes patógenos. Un lugar destacado dentro del sistema inmunológico lo ocupan las moléculas especializadas, denominadas anticuerpos. Es realmente asombroso que un organismo sea capaz de producir más de un millón de anticuerpos diferentes. Acerca de los mecanismos moleculares que explican esta gran diversidad trata el capítulo correspondiente.

Los 3 capítulos siguientes se refieren a problemas muy relacionados entre sí: el origen, la evolución y el envejecimiento de los seres vivos.

En cuanto al origen de la vida es difícil concebir alguna persona que no haya sentido curiosidad acerca de este tema. Aunque este problema aún no ha sido resuelto en su totalidad, hoy en día se dispone de un cuadro bastante satisfactorio de los eventos que pudieron conducir al origen de la vida. Es más, ya ha sido posible realizar experimentos relacionados con estos eventos.

La evolución de los seres vivos ha sido muy bien documentada por ciencias como la paleontología, la anatomía comparada y otras. Como veremos, la bioquímica también ha contribuido a confirmar esta concepción, desentrañando las huellas del proceso evolutivo mediante el estudio de los componentes moleculares de los seres vivos. Adicionalmente, la bioquímica ha podido brindar elementos de gran valor, en cuanto a los mecanismos que posibilitan el desarrollo evolutivo. En la actualidad, los científicos han podido remedar, a nivel de laboratorio, procesos con significado evolutivo.

Por último, se trata el problema del envejecimiento. ¿Por qué los seres vivos envejecen y eventualmente mueren? ¿Cuál es el significado biológico de estos procesos? ¿Cuáles son los mecanismos que lo determinan? En el último capítulo de esta sección veremos cómo el envejecimiento está dejando de ser una preocupación individual, para convertirse en un campo de estudio científico intenso, de relevante repercusión social.

# 80

## CAPÍTULO

### Cáncer

A pesar de que existen enfermedades que cobran un mayor número de vidas cada año, por ejemplo, la arteriosclerosis, el cáncer sigue teniendo, tanto en el ámbito médico como popular, un funesto prestigio de enfermedad "terrible". Esta imagen se fundamenta en su elevada letalidad, en su rápida y habitual fatal evolución, y en los aún limitados recursos terapéuticos disponibles para curarlo. Aunque se han dedicado cuantiosos recursos al estudio del cáncer, el avance obtenido en este campo es todavía limitado e insuficiente, si bien se han producido algunas contribuciones de relativa importancia en la medicina nuclear, la cirugía, la farmacología y otros.

La razón fundamental de esa limitación está dada por el desconocimiento que ha existido acerca de las causas del cáncer. Su génesis es, por tanto, uno de los enigmas más acuciantes de la medicina y la biología contemporáneas.

Dentro de este "sombrio" panorama han comenzado a vislumbrarse algunos elementos esperanzadores. En este capítulo se expondrán algunos de los descubrimientos más recientes en el conocimiento de este problema, de trascendental importancia teórica y práctica.

### Concepto y características

Si bien existen muchos tipos de cáncer o neoplasias malignas, en dependencia del tejido o tipo celular que le da origen, en todos los casos se presentan una serie de rasgos comunes. En este capítulo el cáncer se define como un conglomerado de células (tumor), que crece de modo incontrolado, invade tejidos vecinos y alejados, y causa grandes daños al organismo en el que se encuentra. Las características particulares de cada tipo de cáncer rebasan los objetivos de este libro.

El cáncer se diferencia de los tumores benignos, sobre todo, por su carácter invasivo, aspecto que ha sido considerado en la propia definición. El tumor canceroso desobedece todas las restricciones que el organismo impone al crecimiento dentro de límites precisos en todos los tejidos, de modo que el cáncer en su crecimiento invade los tejidos circundantes y, más aun, sus células migran desde su localización original, hasta sitios más o menos distantes, donde dan origen a tumores secundarios, denominados metástasis. Esta invasión progresiva del organismo llega a interferir en sus funciones y compromete la vida.

## La célula cancerosa y sus características

Si todo tumor canceroso está formado por células cancerosas, debe pensarse que su comportamiento anormal es el reflejo de irregularidades en las células que lo constituyen. Por tanto, se considera que, en buena medida, el conocimiento de la biología del cáncer puede circunscribirse al de la célula cancerosa.

Cuando se han estudiado células cancerosas y se han comparado con células normales, se ha podido comprobar que las primeras muestran diversas diferencias, con respecto a las segundas. El hecho de presentar múltiples características diferenciales ha conducido a la afirmación de que el carácter transformado es pleiotrópico, término que alude precisamente a esta multiplicidad de diferencias.

Entre las características que distinguen a las células cancerosas podemos enumerar las siguientes:

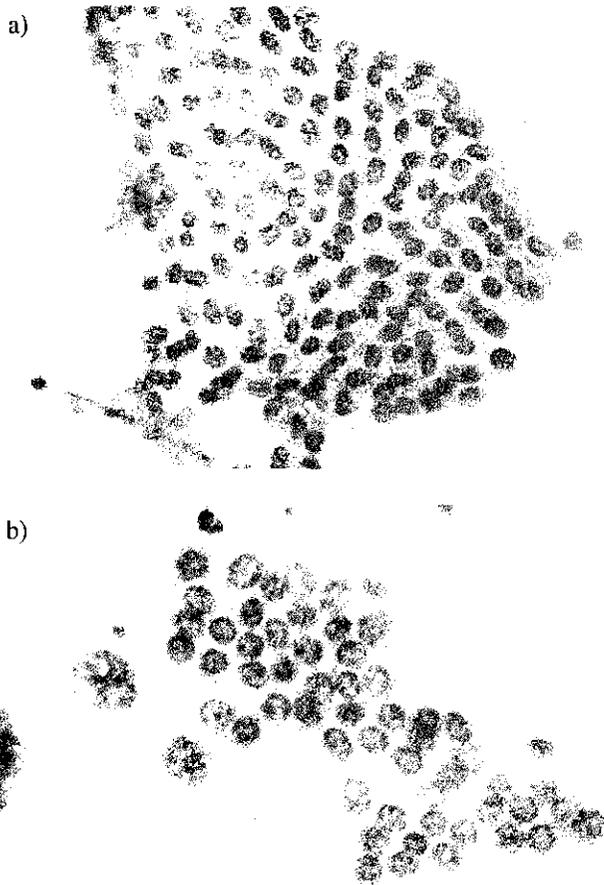
1. **Multiplicación incontrolada.** Las células cancerosas se multiplican por división celular, a una velocidad mucho mayor que la habitual para el tipo celular del cual se originó. Esta multiplicación no responde normalmente a los mecanismos que controlan la multiplicación celular en el organismo.
2. **Comportamiento invasivo.** Las células cancerosas, en su crecimiento, invaden los tejidos vecinos y alejados, sin respetar los límites normales entre órganos.
3. **Alto consumo energético.** Las células cancerosas tienen un metabolismo muy acelerado, que se refleja, entre otras cosas, por su elevado consumo de sustratos energéticos, especialmente glucosa.
4. **Predominio del metabolismo anaerobio.** Las células cancerosas obtienen su energía por vías degradativas anaerobias, lo que explica, en parte, su alto consumo energético y la liberación por éstas de productos de oxidación incompleta, como el ácido láctico.
5. **Alteraciones morfológicas.** Éstas pueden ser muy variadas y afectan el tamaño y la forma de la célula (Fig. 80.1). Es común observar mitosis multipolares y otras anomalías.
6. **Modificación de las propiedades inmunológicas.** Las células cancerosas presentan modificaciones en los mecanismos de reconocimiento intercelular, con manifestaciones muy variadas. Estas modificaciones se explican por alteraciones de los componentes normales de la membrana plasmática.

## Transformación cancerosa

De acuerdo con el estado actual de nuestros conocimientos, se considera que la célula cancerosa se origina a partir de una célula normal mediante un cambio que se denomina transformación cancerosa, o simplemente transformación. Además, un tumor canceroso puede desarrollarse a partir de una sola célula que sufre la transformación, de modo que en un tejido, hasta entonces normal, una célula experimenta un cambio crucial, y se transforma y convierte en cancerosa. La célula cancerosa, al multiplicarse, da origen a los millones de células que componen el tumor, las cuales presentan el carácter transformado y son, por lo tanto, células cancerosas.

El tumor experimenta un proceso inicial de crecimiento *in situ*, hasta que comienza la invasión de tejidos vecinos y alejados, lo cual puede producirse -más o menos- rápidamente, según el grado de malignidad del cáncer de que se trate.

Queda claro que la transformación de la primera célula, otrora normal, es el evento desencadenante del resto de la historia natural del cáncer (Fig. 80.2).



Fuente: Takahashi M.: Atlas de color. *Citología del Cáncer*. 2da. edición (en español). Editorial Científico-Técnica, 1982.

Fig. 80.1. Alteraciones morfológicas en células cancerosas. Las células en (a) corresponden a un tejido normal y las que se observan en (b) son cancerosas. Nótese las diferencias morfológicas entre unas y otras.

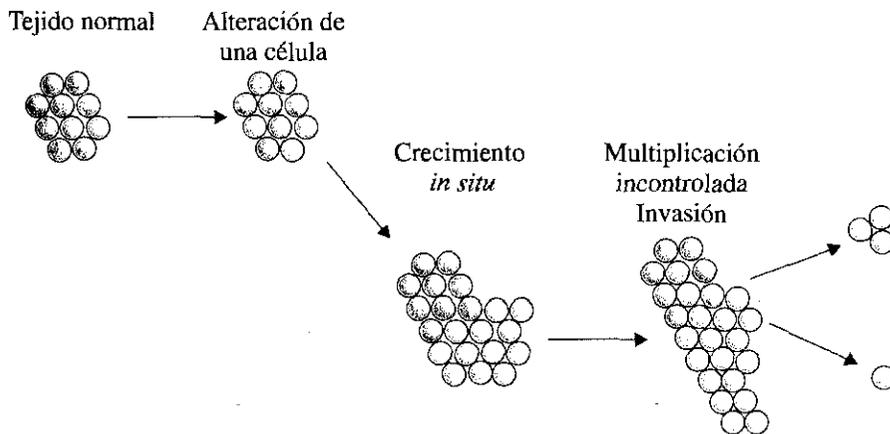


Fig. 80.2. Origen y desarrollo de un tumor canceroso. Una vez ocurrida la transformación cancerosa de una célula, ésta se multiplica de modo incontrolado. El tumor pasa por una etapa de crecimiento *in situ* y posteriormente invade los tejidos circundantes, e incluso los que se encuentran alejados, y se originan las *metástasis*.

### Carácter hereditario de la transformación

Nótese que la célula cancerosa, al multiplicarse por sucesivas divisiones, mantiene su naturaleza anormal. El carácter transformado se comporta como una característica heredable, que se trasmite de la célula progenitora a las células que constituyen su descendencia.

## Búsqueda de la alteración primaria

Desde luego, se considera que todas estas alteraciones no son independientes, y se supone que la célula cancerosa presentaría una alteración inicial (primaria), que daría origen al resto de las anomalías. La transmisión hereditaria del carácter transformado durante sucesivas divisiones celulares ha hecho pensar que esta alteración primaria ocurre en el ADN celular durante la transformación.

Como se sabe, el ADN es el depositario de la información genética, de modo que es plausible pensar que una alteración en la información conduciría, al expresarse ésta, a un comportamiento anormal y, por lógica, esta situación sería transmitida a la descendencia durante las sucesivas divisiones celulares. Precisamente, uno de los terrenos en que la bioquímica ha contribuido al conocimiento del cáncer es en lo referente a la función del ADN en el proceso de transformación cancerosa.

## Premisas experimentales para investigar el cáncer

Aunque en realidad son múltiples los métodos experimentales que se han empleado en las investigaciones sobre el cáncer, aquí nos referiremos al cultivo de tejidos y a las técnicas de ingeniería genética (también llamadas de ADN recombinante). Esta selección se debe a que estos 2 métodos han sido los que han permitido penetrar en las bases moleculares del cáncer, de modo que constituyen sus premisas experimentales.

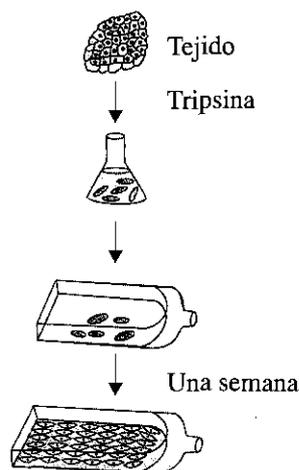


Fig. 80.3. Método empleado para la preparación de un cultivo primario de tejidos. El tejido seleccionado se aísla y somete a la acción de enzimas y otros agentes que dispersan sus células constituyentes. Estas células son colectadas y "sembradas" en un medio de composición apropiada, donde se mantienen vivas y activas metabólicamente, e incluso se reproducen.

## Cultivo de tejidos

Las técnicas de cultivo de tejidos tienen como objetivo mantener vivos determinados tipos de células y, en ocasiones, obtener su multiplicación en condiciones controladas de laboratorio. En el caso de organismos inferiores esto resulta relativamente fácil, pues ellos suelen presentar pocos requerimientos para crecer y multiplicarse. Mucho más difícil es obtener un cultivo de células de organismos superiores, por ejemplo, las de un mamífero. El medio natural de estas últimas, en los diferentes tejidos, presenta una composición muy especial, que se mantiene estrictamente regulada.

Para obtener el cultivo primario se extrae del animal un fragmento de tejido que contenga el tipo celular de interés. Éste se somete a un proceso de dispersión, en el que se emplean, habitualmente, enzimas como la tripsina y la colagenasa, que degradan los componentes de la sustancia intercelular (Fig. 80.3).

Posteriormente las células son colectadas por centrifugación y se "siembran" en recipientes de distintos tipos, que contienen soluciones especiales (medios de cultivo), compuestas por glucosa, aminoácidos, sales minerales y otras sustancias, según la naturaleza de las células que se pretenden cultivar.

Durante todo el proceso se debe trabajar en condiciones de esterilidad para evitar contaminaciones; con este mismo fin se suele añadir algún antibiótico al medio de cultivo.

Las células, por lo común, se adhieren a la superficie del recipiente y se multiplican hasta formar una capa celular simple (*monolayer*) que cubre toda la superficie. En esta etapa se dice que el cultivo es confluyente. Generalmente, las células detienen aquí su crecimiento, aunque permanecen metabólicamente activas.

El medio de cultivo debe cambiarse con determinada frecuencia para restituir los nutrientes consumidos y retirar las sustancias de desecho del metabolismo.

Las células cultivadas pueden desprenderse del recipiente y volverse a sembrar. Teóricamente, es posible mantener de esta forma una línea o estirpe celular (clon) por tiempos prolongados. El límite de vida del cultivo depende del tipo celular y de otras condiciones.

Las investigaciones realizadas con cultivos de células tienen la ventaja de que permiten manipular un solo tipo celular homogéneo y las condiciones son muy controladas. Sin embargo, se debe ser cuidadoso al extrapolar los resultados a las condiciones *in situ*, pues la situación es, sin dudas, diferente.

A través de los años, los investigadores han logrado establecer líneas de cultivo prácticamente inmortales, entre ellas cabe destacar las células He-La, que se obtuvieron originalmente de un carcinoma uterino humano y han alcanzado una distribución universal entre los laboratorios que utilizan cultivos de tejidos. Hoy en día existen otros tipos celulares, establecidos en líneas de cultivo.

Por lo general, las células cancerosas pueden cultivarse con relativa facilidad. En estos cultivos se mantienen la mayoría de las características que las distinguen como células cancerosas. De hecho, muchas células cancerosas en cultivo manifiestan su exagerada tendencia a la multiplicación, porque no detienen su crecimiento cuando el cultivo alcanza el estado de confluencia, sino que continúan dividiéndose hasta formar capas múltiples, e incluso llegan a separarse de la superficie del recipiente para crecer suspendidas en el medio de cultivo.

### Métodos de ingeniería genética

Los métodos de ingeniería genética permiten manipular grandes fragmentos de ácidos nucleicos, fundamentalmente ADN, de modo que se pueden "construir" moléculas con las características deseadas por el investigador y multiplicarlas ilimitadamente.

En estos procedimientos se hace un profuso empleo de las enzimas de restricción, para efectuar cortes en moléculas de ADN y de la ligasa, que une entre sí fragmentos de estas macromoléculas.

De especial importancia son los vectores (plásmidos, virus bacterianos y otros), pues posibilitan la multiplicación de un fragmento de ADN, en cuyo estudio exista determinado interés.

Para obtener más detalles sobre estos procedimientos consúltese el capítulo 35.

A continuación describiremos 2 experimentos que demuestran cómo se viene produciendo la contribución de la bioquímica al conocimiento de las bases moleculares del cáncer.

### Experimento No. 1. Transformación de células normales por ADN extraído de células cancerosas

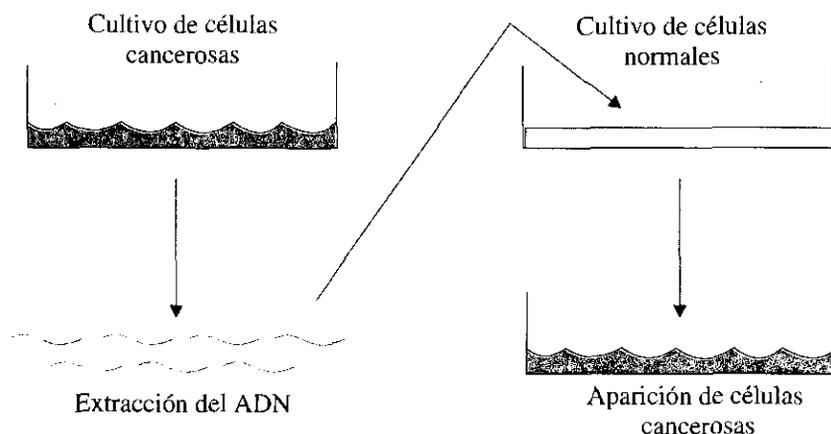
Este experimento fue realizado por *Shih* y tenía como antecedente los trabajos de *Avery* y otros, que lograron modificar las características genéticas de neumococos mediante la transferencia de material genético (ADN) de unas cepas a otras.

*Shih* aprovechó la capacidad que tienen las células normales y cancerosas de crecer en cultivo cuando están colocadas en un medio de composición adecuada.

El ADN de células cancerosas cultivadas se extrajo y, después de determinadas purificaciones y manipulaciones, se añadió a un cultivo de células normales. El sorprendente resultado fue que en el cultivo de células normales aparecieron células alteradas, con todas las características de las células cancerosas (Fig. 80.4).

Es evidente que en este experimento se había logrado provocar la transformación cancerosa utilizando el material genético (ADN). Igualmente, se pudo comprobar que todo el proceso podía repetirse una y otra vez con los mismos resultados, en forma seriada, es decir, extrayendo en cada caso el ADN de las nuevas células transformadas. Así quedaba establecido que el ADN obtenido contenía la información para inducir la transformación.

Fig. 80.4. Experimento No. 1. Transformación de un cultivo de células normales por el ADN extraído de células cancerosas. Las células cancerosas se tratan de modo tal que su ADN se obtiene en forma altamente purificada. Al adicionar este ADN a cultivos de células normales, se observa que éstas se modifican y se convierten en células cancerosas.



Sin embargo, el ADN de una célula es muy complejo y contiene información genética para la síntesis de una gran cantidad de proteínas y otros componentes celulares, además de elementos que intervienen en la regulación del funcionamiento celular. Por ello, se pensó que el efecto transformante no debía corresponder a la totalidad del ADN extraído de las células cancerosas, sino, muy probablemente, a un determinado sector de éste.

Esta suposición resultaba apoyada por el hecho de que el experimento relatado pudiera ser repetido de manera sucesiva, ya que en este caso no era lógico pensar que todo el ADN de la célula cancerosa original pudiera seguirse obteniendo y transmitiendo íntegramente en cada transformación sucesiva.

Por consiguiente, los investigadores se dieron a la tarea de aislar e identificar, dentro del complejísimo genoma celular, aquel segmento del ADN que era responsable del efecto transformante.

Este tipo de investigación sólo ha sido posible en años recientes, gracias a los avances de las técnicas de ingeniería genética. El problema básico se resolvió en 3 laboratorios, en los cuales se utilizaron metodologías algo diferentes.

Expondremos a continuación el método seguido por Cooper, por considerarlo el más asequible.

#### **Experimento No. 2. Transformación de células normales por un segmento específico del ADN extraído de células cancerosas**

Cooper y otros extrajeron el ADN de células cancerosas de cultivo, y luego de fragmentarlo en múltiples segmentos, con el auxilio de enzimas de restricción, clonaron cada segmento en un vector (en este caso se utilizó un virus bacteriano del tipo de los fagos) (Fig. 80.5). De esta forma, cada segmento obtenido del ADN de las células cancerosas pudo separarse y multiplicarse. En esta etapa del experimento correspondía ensayar la capacidad transformante de cada fragmento, para comprobar cuál era capaz de inducir la transformación de células normales de cultivo.

Resulta evidente que el número de fragmentos a estudiar era muy elevado, y su tratamiento individual hubiera enlentecido mucho el desarrollo del experimento. El equipo de Cooper resolvió esta dificultad mediante un procedimiento en el cual se ensayaba la capacidad transformante de grandes grupos de segmentos de ADN. Cuando en uno de éstos se evidenciaba la capacidad transformante, el grupo se dividía en otros grupos más pequeños, y así sucesivamente. De este modo, en un tiempo relativamente corto se pudo identificar y aislar un segmento de ADN que tenía una altísima capacidad transformante. Este resultado podía interpretarse como el aislamiento del gen productor del cáncer.

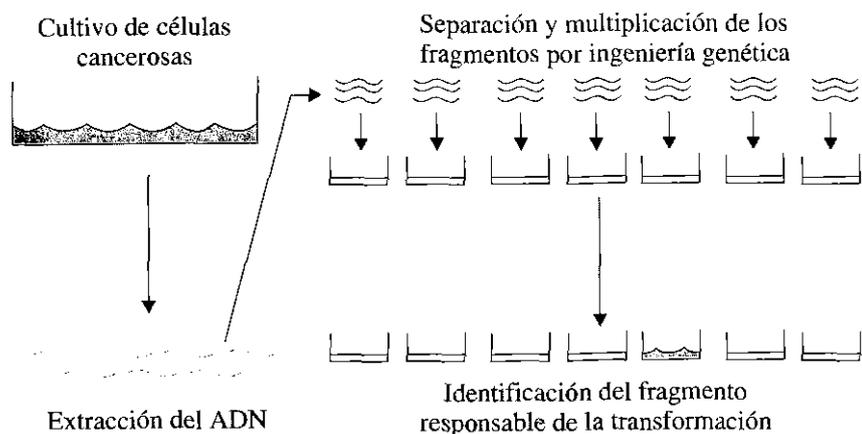


Fig. 80.5. Experimento No. 2. Aislamiento del fragmento de ADN responsable de la transformación cancerosa. El ADN extraído de células cancerosas es fragmentado con el empleo de enzimas de restricción. Los fragmentos obtenidos son clonados en un vector apropiado y añadidos a cultivos de células normales. De este modo es posible identificar el fragmento específico de ADN, capaz de inducir la transformación cancerosa.

## Oncogenes y proto-oncogenes

La existencia de genes productores de cáncer se sospechaba desde hacía algunos años, sobre todo por experimentos que habían realizado los virólogos que estudiaban las relaciones entre los virus y el cáncer. Algunos virus son capaces de producir cáncer en animales, debido a la presencia en ellos de determinados genes particulares, denominados oncogenes. Sin embargo, la identificación y el aislamiento de oncogenes, a partir de células cancerosas, sólo fueron posibles mediante los experimentos que hemos descrito anteriormente, lo que posibilitó, además, someter dichos oncogenes a diversos estudios.

Un sorprendente resultado de investigaciones posteriores fue comprobar que las células normales contienen en su genoma secuencias de ADN muy similares (aunque no siempre idénticas) a las de algunos oncogenes que para entonces habían podido ser aislados.

Estos estudios se realizaron buscando en los genomas de células normales segmentos de ADN que pudieran hibridar con determinado oncogén. Como se sabe, la hibridación sólo se produce cuando hay una gran homología secuencial. A este tipo de genes, presentes en las células normales, se les denominó proto-oncogenes.

## Mecanismos moleculares de la transformación

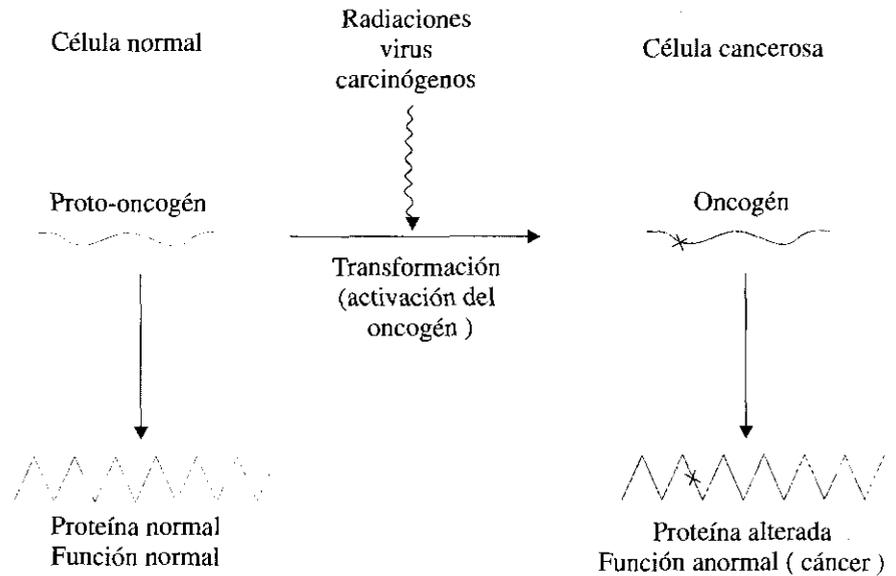
Establecida la existencia de los oncogenes y los proto-oncogenes, se postuló un mecanismo para explicar la transformación cancerosa, el cual plantea que en las células normales existen determinados genes (los proto-oncogenes), que de modo espontáneo o provocado pueden sufrir alteraciones en su secuencia, dando lugar así a los oncogenes, los cuales, al estar presentes en la célula, determinan el comportamiento canceroso (Fig. 80.6).

En la actualidad se han podido identificar varios proto-oncogenes. Si bien en algunos casos la transformación del proto-oncogén en oncogén consiste en una mutación puntual única, algunos experimentos parecen indicar que se requiere más de un cambio (mutación) para producir la transformación. Este hecho ha dado origen a la teoría multifásica, que se tratará más adelante.

## Alteración estructural de los proto-oncogenes

Robert A. Weimberg y su grupo han logrado una caracterización muy precisa de una mutación puntual, presente en células de carcinoma de vejiga. Para conseguirlo, el oncogén y su proto-oncogén correspondiente fueron clonados, y mediante un

Fig. 80.6. Mecanismo de mutación puntual, propuesto para explicar el evento inicial de la transformación cancerosa. Al producirse una mutación en un proto-oncogén, su información se altera y se convierte en un oncogén; su transcripción y traducción dan lugar a una proteína modificada, cuya función alterada ocasiona los cambios propios del cáncer.



procedimiento de empalmes entre sus diferentes segmentos se estableció que ambos diferían en solo un nucleótido. En el oncogén aparece timina, en el sitio que ocupa una guanina del proto-oncogén.

En términos de código genético, el cambio de un triplete GCG por GTC (que era el producido) implica la sustitución en la proteína correspondiente de una glicina por valina.

### Hipótesis de la dosis

La mutación puntual no parece ser el mecanismo más común para la activación de los proto-oncogenes y la producción de la transformación cancerosa. En los últimos años han surgido otros mecanismos que se relacionan con la hipótesis de la dosis. Esta hipótesis sostiene que en toda célula normal los oncogenes se expresan en determinada cuantía, ya que intervienen en importantes funciones celulares. Cuando la expresión del oncogén se realiza en demasía, ocurre la transformación.

Son 3 los procesos de transformación que se explican a través de la hipótesis de la dosis, y en todos existen suficientes pruebas experimentales.

Carlo Croce y Philip Leder han encontrado que en el linfoma de Burkitt la activación del oncogén se produce al transferirse un segmento del cromosoma 8 hacia el 14. Esta transferencia conduce a un acercamiento entre determinado oncogén, denominado myc, y los genes que codifican las cadenas de proteínas de las inmunoglobulinas. En estas condiciones se produce una interacción entre la zona reguladora de la producción de inmunoglobulinas y el oncogén, lo cual determina su expresión incrementada y, por tanto, la transformación.

En otros casos, como en algunos cánceres de colon, se ha podido determinar que el gen responsable se encuentra en múltiples copias, en los diferentes cromosomas del genoma celular, de ahí su expresión en cantidades superiores a las normales.

Por último, en algunos cánceres animales, producidos por virus, ocurren interacciones entre el material genético celular y el viral, de modo que el oncogén se expresa en forma anómala.

En los casos en que la transformación se produce de acuerdo con la hipótesis de la dosis, no existe, necesariamente, una alteración estructural del gen causante del cáncer. Por esa razón algunos autores no realizan una distinción absoluta entre oncogenes y proto-oncogenes.

El genoma humano posee unos 30 000 genes; de éstos, se calcula que los que tienen capacidad oncogénica no deben sobrepasar el centenar. Es muy posible que la activación de los oncogenes que producen distintos tipos de cáncer presente determinadas particularidades, pero se considera que deben ser variaciones de los mecanismos ya descubiertos. Es posible también que algunos oncogenes se activen por varios mecanismos.

## Productos de los oncogenes

Los oncogenes se han encontrado en células de organismos tan diferentes entre sí como la mosca y el hombre. Cabría preguntarse por qué razón estos genes, que son tan peligrosos potencialmente, se han conservado en el largo proceso de la evolución. Sencillamente, parece que son responsables de funciones de gran importancia en la actividad normal de la célula.

Se ha investigado intensamente para determinar cuál o cuáles son los productos de los oncogenes y qué funciones realizan.

Existe un producto de oncogén muy estudiado. *Raymond L. Erikson* y otros lograron identificar la proteína codificada por el oncogén *src*, el cual es de origen viral y produce en pollos un cáncer denominado sarcoma de Rous, de ahí su denominación (*sarcome Rous chicken*).

El oncogén *src* codifica una proteína, la *pp60v-src*, denominación que se refiere a la proteína de peso molecular de 60 000 D producto del oncogén viral *src*. Esta proteína posee unos 520 aminoácidos, y en las células se localiza en la cara interna de la membrana plasmática, a la cual se fija mediante un ácido graso saturado, unido a su extremo amino terminal.

Se ha descubierto que la *pp60v-src* tiene actividad de quinasa de proteínas, es decir, fosforila proteínas a expensas del ATP. Es conocida la importancia de las quinasas de proteínas en la regulación de múltiples funciones metabólicas. Sin embargo, resultó sorprendente que la *pp60v-src* introducía los grupos fosfato en residuos de tirosina, diferente a otras quinasas conocidas con anterioridad, que lo hacían en residuos de serina o treonina.

La *pp60v-src* fosforila con gran especificidad un residuo de tirosina de la vinculina, una proteína que participa en la estructuración del citoesqueleto. La fosforilación de la vinculina desorganiza las placas de adhesión, que contribuyen a la fijación de las células en las superficies. Este hecho provee una explicación para determinadas alteraciones morfológicas que se manifiestan en las células cancerosas.

Las células transformadas poseen cantidades incrementadas de *pp60v-src*, lo cual se ha puesto en evidencia mediante técnicas inmunológicas.

Se piensa que la actividad aumentada de esta quinasa podría trastornar totalmente el funcionamiento celular y conducir a la aparición del cáncer. La presencia de esta proteína en células normales indica, por su parte, que debe tener participación en determinadas funciones normales.

Hoy en día se conocen varios oncogenes que codifican quinasas de proteínas. Se sabe que varias de ellas fosforilan específicamente residuos de tirosina (tabla 80.1).

Estos hechos han atraído la atención de los investigadores hacia las quinasas de proteínas específicas de tirosina, en el supuesto de que deben intervenir en la regulación de aspectos de suma importancia en las funciones celulares.

Sin embargo, se conocen oncogenes cuyo producto carece de actividad quinásica. Algunos oncogenes parecen intervenir en la codificación de determinadas proteínas, pertenecientes al grupo de las denominadas factores de crecimiento, o bien de los receptores de dichos factores. Concretamente, en sarcomas de monos producidos por virus, se ha demostrado la síntesis y excreción de una biomolécula idéntica, o al menos muy parecida, al factor de crecimiento procedente de plaquetas (*platelets derived growth factor*, PDGF).

Tabla 80.1. *Oncogenes que codifican quinasas de proteínas\**

Oncogén	Localización de la quinasa	Especificidad sobre residuos de tirosina
v-src	Membrana plasmática	Sí
v-fps	Membrana plasmática	Sí
v-abl	Membrana plasmática	Sí
v-ras	Membrana plasmática	Se desconoce
v-yes	Desconocida	Sí
v-ros	Desconocida	Sí
v-fes	Desconocida	Sí
v-fms	Desconocida	Se desconoce

\* Adaptado de Bishop J Michael. "Oncogenes". Investigación y Ciencia. Mayo de 1982.

El producto de otro oncogén, el erb-B, presenta una gran similitud con el receptor del factor de crecimiento epidérmico (*epidermal growth factor*, EGF). El descubrimiento de que el receptor de EGF posee un dominio intracelular, con actividad de quinasa de proteínas específica para tirosina, ha establecido un vínculo entre estos productos de oncogenes y los vistos anteriormente.

El producto del oncogén p21ras también se localiza en la membrana, pero en lugar de actividad quinasa posee actividad de guanosín trifosfatasa (GTPasa). En células transformadas la actividad GTPasa de esta proteína está muy disminuida, en relación con las células normales. Varias GTPasas de membrana intervienen en la modulación de los efectos que tienen algunas hormonas sobre las células. El producto de algunos proto-oncogenes actúa como un factor de transcripción nuclear y regula la frecuencia con que algunos genes son transcritos.

## Genes supresores tumorales

En los años 70, los estudios de determinados cánceres, como el retinoblastoma y el tumor de Wilms, permitieron reconocer la importancia que tienen en la carcinogénesis algunos genes, denominados **genes supresores tumorales o antioncogenes**.

Todo parece indicar que los productos de estos genes son necesarios para las funciones celulares normales, y que la pérdida de dicha función da lugar a tumores cancerosos. En estos casos el efecto del gen tiene carácter recesivo, en el sentido de que las 2 copias de una célula diploide deben estar alteradas para que aparezca el cáncer, lo que contrasta con el carácter dominante de los oncogenes y ha sido la explicación de algunos experimentos, en los cuales, al fusionarse una célula normal con una cancerosa, el carácter canceroso desapareció, contrariamente a lo que se hubiera podido esperar.

Entre los genes supresores tumorales, uno de los más estudiados es el p53, cuya localización cromosómica está en 17p13; está implicado en cánceres de mama, colon, pulmón y otros, y se ha afirmado que más del 50 % de los cánceres humanos presentan alteraciones de este gen.

El producto del gen p53 posee una acción que detiene el ciclo celular, y mantiene a la célula en G<sub>0</sub>. La entrada de la célula en fase S requiere la inactivación del producto de p53; también se ha comprobado que este producto induce la apoptosis (muerte celular), cuando las células presentan daños del ADN que no son reparables.

Hoy se distinguen cerca de dos decenas de genes supresores tumorales y aunque en muchos casos se desconoce su función, algunos, al igual que p53, regulan el ciclo celular o la adhesión entre células.

El conocimiento de los genes supresores tumorales ha abierto una nueva alternativa para explicar los mecanismos de la carcinogénesis, además de la activación de los oncogenes.

## Teoría multifásica de la carcinogénesis

Como ha podido verse hasta aquí, las mutaciones somáticas constituyen el mecanismo molecular de la transformación cancerosa. Se considera que en la mayoría de los cánceres son necesarias de 2 a 7 mutaciones, para dar lugar a un cáncer típico.

De lo anterior se deduce que la carcinogénesis no es un evento único y súbito, sino que es un proceso más o menos prolongado, que atraviesa por diferentes pasos o etapas. Esta concepción se conoce como **teoría multifásica de la carcinogénesis**.

Las etapas consideradas por la teoría multifásica son las siguientes:

1. **Iniciación.** Se produce por cambios irreversibles en el ADN, que son incapaces de producir el desarrollo neoplásico por sí solos. Desde el punto de vista médico se relacionan con las acciones preventivas del cáncer.
2. **Promoción.** Las células iniciadas pueden ser inducidas a proliferar, por la acción de diferentes agentes que no son cancerígenos en sí mismos. Sus efectos aún son reversibles. Desde el punto de vista médico se vinculan con el diagnóstico precoz de lesiones precancerosas.
3. **Progresión.** Nuevas mutaciones en células iniciadas y promovidas conducen a que proliferen de modo autónomo, sin la necesidad del concurso de agentes promotores. Se considera una fase aún curable.
4. **Transferencia.** Es la fase de expansión y crecimiento celular incontrolado. El tratamiento en esta etapa suele ser paliativo.

## Cambios poscarcinogénesis

La capacidad de crecimiento e invasión de un tumor canceroso está vinculada a cambios adicionales en el comportamiento celular. Se ha comprobado que los tumores cancerosos suelen producir factores angiogénicos, como el factor básico de crecimiento de fibroblastos, los cuales, a su vez, estimulan el desarrollo de los vasos sanguíneos que nutren la masa tumoral y proveen una vía para su extensión.

Adicionalmente, las células cancerosas producen colagenasa y otras proteasas que degradan las membranas basales, lo cual posibilita la invasión de los tejidos adyacentes.

Por otro lado, los cambios inmunológicos posibilitan que las células cancerosas del tumor original y de las metástasis escapen a la vigilancia del sistema inmunológico. La disfunción inmunológica explica, en parte, la frecuente aparición de cánceres en pacientes inmunodeprimidos, como sucede en los afectados por el SIDA y en los que reciben tratamiento inmunosupresor, por haber sido receptores de órganos trasplantados.

## Perspectivas

En un plazo relativamente corto se completará el inventario de los principales oncogenes y genes supresores tumorales humanos, y se dilucidarán sus mecanismos de acción en el origen del cáncer.

Es muy probable que en los próximos años se llegue a tener un esquema unificador que permita explicar, por un lado, los mecanismos normales de control del crecimiento

y la multiplicación celular y que, por otro, brinde la clave de las alteraciones que conducen a la transformación cancerosa.

Posiblemente, la acción de la diversidad de oncogenes y de los productos de éstos que se conocen en la actualidad, sólo difieran en cuanto a las etapas del mecanismo de control donde actúan.

Los aportes de la bioquímica al conocimiento del cáncer podrán contribuir a la búsqueda de métodos de detección y tratamiento más eficaces, pero también darán un impulso significativo a la comprensión de los mecanismos moleculares de importantes funciones de la materia viva, como son el crecimiento y la multiplicación.

## Resumen

El cáncer se produce por la transformación de células normales en cancerosas, lo cual ocasiona múltiples alteraciones en las características de éstas, en particular un crecimiento y multiplicación incontrolados, y un comportamiento invasivo sobre el resto del organismo.

Las causas del cáncer sólo comienzan a entenderse, en sus aspectos moleculares, en años recientes. Ha quedado claro que el carácter transformado es heredable y se transmite de las células progenitoras a su descendencia; por tanto, el ADN está involucrado en su producción.

El ADN de células cancerosas tiene la capacidad de producir la transformación de células normales. Esta capacidad reside en segmentos específicos del ADN, que se denominan oncogenes.

En células normales se han encontrado segmentos de ADN muy similares a los oncogenes, los cuales se denominan proto-oncogenes. El evento inicial de la transformación cancerosa, en algunos tipos de cáncer, consiste en la formación de un oncogén a partir de un proto-oncogén.

En determinados casos una mutación puntual resulta suficiente para producir la transformación, pero otros mecanismos pueden producir la activación de oncogenes, por ejemplo, la transferencia de segmentos entre cromosomas, la multiplicación de genes o la interacción con ADN de origen viral.

Muchos oncogenes codifican enzimas con actividad de quinasas de proteínas que fosforilan en residuos de tirosina. Otros productos de oncogenes se relacionan con los factores de crecimiento o sus receptores.

Los genes supresores tumorales o antioncogenes también tienen participación en la aparición de muchos tipos de cáncer.

Es muy probable que todas estas proteínas y sus genes participen en los mecanismos que controlan el crecimiento y la multiplicación de las células, tanto en condiciones normales como en el cáncer. En la actualidad se considera que la transformación cancerosa no es un proceso único y súbito, sino que consta de múltiples etapas, lo cual ha dado origen a la teoría multifásica de la carcinogénesis.

Para que se constituya un tumor típico se requieren algunos cambios poscarcinogénesis. Éstos se relacionan con las modificaciones inmunológicas y la secreción de factores angiogénicos y proteasas.

## Ejercicios

1. Explique en qué consiste la transformación cancerosa y cuáles son sus consecuencias.
2. Enumere las características de las células cancerosas.
3. ¿Cómo se demostró que el ADN de células cancerosas era capaz de inducir la transformación de células normales? ¿Qué relación encuentra entre este hecho y el carácter informacional de las moléculas de ADN?

4. Analice el experimento número 2 de este capítulo e indique:

- a) ¿Cuál es el objetivo de este experimento?
- b) ¿De qué modo intervienen las técnicas de cultivo de tejidos y de ingeniería genética en la realización del experimento?
- c) ¿Cuáles son los resultados del experimento?

5. Describa los mecanismos moleculares propuestos para explicar la transformación cancerosa.

6. Un grupo de científicos descubrió sorprendentemente que el ADN de algunas células cancerosas de cultivo no presentaba ninguna alteración estructural en la secuencia de bases de sus genes. En este sentido, esas células cancerosas no diferían de las células normales.

Para comprobar una hipótesis se extrajo el ADN de las células normales y de las cancerosas, y después de fragmentarlo con enzimas de restricción se hibridó con un segmento de ADN radiactivo, capaz de unirse por complementariedad de bases con un oncogén. El ADN fragmentado e hibridado se separó por electroforesis y se determinó en cada tipo celular cuántos fragmentos híbridos existían, mediante un proceder que revela las bandas que tienen radiactividad (autorradiografía).

Se encontró que el ADN de las células normales sólo presentaba un fragmento híbrido, mientras que en las células cancerosas se observaban varios.

- a) ¿Qué conclusiones pueden emitirse en cuanto a la composición del genoma de las células normales y cancerosas en este caso?
  - b) ¿Qué conocimientos aportaría este experimento, en relación con los mecanismos de la transformación cancerosa?
  - c) ¿Con cuál hipótesis acerca de la activación de oncogenes se relaciona el resultado de este experimento?
7. ¿Por qué en las células diploides se requiere de la alteración de ambas copias de un gen supresor tumoral para que se produzca la transformación cancerosa?
8. ¿Cuáles son las etapas consideradas en la teoría multifásica de la carcinogénesis?
9. ¿Cuáles son los principales cambios poscarcinogénesis que se producen en el desarrollo de un tumor canceroso?