

Alteraciones en los señalamientos intracelulares en el cáncer

*Victor Manuel Valdespino-Gómez, * Victor Edmundo Valdespino-Castillo, **
Marcela Márquez-Holmberg****

Resumen

La transición de una célula normal a una célula maligna implica diferentes alteraciones de sus vías de señalización intracelular. La transducción y transmisión de estos señalamientos intracelulares depende de circuitos moleculares. Un aspecto central del cáncer es el concepto de que las células pierden su capacidad para detectar y responder de forma adecuada a los señalamientos extracelulares y que frecuentemente desarrollan señalamientos autocrinos para superar los controles normales. El objetivo de esta investigación fue analizar los principios generales de las vías de señalamiento celulares fisiológicas y sus principales alteraciones en algunos modelos de células neoplásicas, para lo cual se realiza una revisión documental de 29 artículos recientes. Las redes de señalización intracelular en cada célula son muy complejas debido al gran número de vías participantes y a las múltiples diferencias de ellas en los tipos celulares específicos. El entendimiento e identificación de los principios generales comunes en la mayoría de las vías de señalamiento intracelulares normales, facilitará la comprensión de las vías de señalamiento oncogénicas. La identificación del patrón de las vías de señalamiento oncogénicas en cada tumor, podría servir como marcador pronóstico o predictivo en la evolución clínica del paciente o como blanco en protocolos de intervencionismo terapéutico molecular.

Palabras clave: Señalamientos intracelulares, célula neoplásica.

Summary

Transitions from normal cell to neoplastic malignant cell type require multiple alterations in cell signalling pathways. Transduction and transmission of these signalling pathways are dependent on integrated molecular circuits. A paramount aspect in cancer development is the concept that the cell loses its ability to detect and respond to extracellular signals and frequently develops autocrine signals for overcoming normal physiological controls. Therefore, we analyzed the current concepts of general principles in physiological and some oncogenic cell signalling pathway patterns. We carried out a documentary review of 29 scientific items in which we identified intracellular signalling pathway systems in each cell so complex due to the high number of participants and the multiple differences among specific cell types. The knowledge and identification of general principles regarding the whole physiological cell signaling pathway patterns help us to understand the oncogenic signaling pathways. Identification of these pathways in any tumor can be used as prognosis or predictor biomarkers in the patient's outcome or as target in clinical therapeutic trials.

Key words: Intracellular signaling pathways, neoplastic cell.

Introducción

La transición de una célula normal a una célula maligna implica diferentes alteraciones de las vías de señalización intracelular. Las vías de señalización intracelular son los mecanismos por los cuales las variaciones del medio extracelular (predominante) y del medio intracelular pueden inducir cambios intracelulares bioquímicos, particularmente en la expresión o represión de proteínas.

La transducción y transmisión de los señalamientos intracelulares depende de circuitos moleculares. Generalmente los pasos de la señalización celular consisten en la unión de un ligando a los receptores celulares, la captación y activación de esos receptores, la difusión del mensaje dentro de la célula por mediadores químicos denominados segundos mensajeros específicos (ej. proteínas tirosina-cinasa) o semiespecíficos (ej. AMP y

* Universidad Autónoma Metropolitana, México, D. F.

** Hospital General de Zona 1, Instituto Mexicano del Seguro Social. Clínica-Hospital, Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Campeche, Campeche, México.

*** Senior Scientist del Grupo Oncológico de Urología, Centro de Cáncer Karolinska, Instituto Karolinska, Estocolmo, Suecia.

Solicitud de sobretiros:

Victor Manuel Valdespino-Gómez.
Ángel Urraza 517,
Col. Del Valle, Del. Benito Juárez,
03100 México, D. F.
Tel.: (55) 5559 7768. E-mail: valdespinov@yahoo.com

Recibido para publicación: 05-11-2008

Aceptado para publicación: 25-02-2009

GTP cíclicos, iones de calcio, fosfoinosítidos, diacilglicerol), la participación de proteínas adaptadoras, la activación de una o más cascadas de señalización molecular, que frecuentemente producen cambios del estado de fosforilación de una o más proteínas blanco, la participación de proteínas reguladoras y, finalmente, la activación de los factores de transcripción que regulan los procesos celulares de proliferación, diferenciación, supervivencia, etcétera.

Un aspecto central del cáncer es el concepto de que las células pierden su capacidad para identificar y responder en forma adecuada a los señalamientos extracelulares, y que frecuentemente emplean señalamientos autocrinos que superan los controles normales de proliferación y supervivencia celulares. La complejidad de los cambios asociados al cáncer es mayor a los implicados en la regulación de las células sanas. En la medida que nuestro conocimiento aumente sobre el funcionamiento de vías intracelulares oncogénicas, podríamos dirigir un intervencionismo sobre los principales componentes de estas vías para conseguir el control de las células cancerosas. Se están desarrollando fármacos altamente específicos que pueden modificar actividades bioquímicas de proteínas o receptores alterados.

Gran parte de lo que hoy se sabe sobre la señalización celular en general procede de los estudios sobre las células tumorales.¹ La íntima asociación entre las alteraciones de las señalizaciones intracelulares y la transformación celular se ha demostrado desde hace más de 30 años a partir del efecto del gen mutado *ras*, el cual se ha identificado en numerosos cánceres humanos. Las principales alteraciones de las vías de señalamiento intracelular que conducen a la oncogénesis son las vías de crecimiento y supervivencia celular (IGF, mTOR, c-Met), ciclo celular y división celular, apoptosis, angiogénesis (Hedgehog, VEGF, HIF-factor de transcripción inducible por hipoxia), reparación del ADN, y las de invasividad y diseminación metastásica (HGF/c-Met, AMF, uPA, MMP). Las alteraciones de las vías de señalización contribuyen al desarrollo del cáncer y otras enfermedades, como la sobreexpresión de los receptores de factores de crecimiento (Her2/neu) o la activación constitutiva de las moléculas de señalización secundarias (*ras*), el aumento de señales celulares de supervivencia (EGFR), la inhibición de las señales de muerte celular (sobreexpresión de bcl-2), o el bloqueo de las señales de crecimiento negativo (vía del factor de crecimiento transformante beta [TGF-β]), entre otras. Los fármacos dirigidos a las alteraciones de las vías de señalamiento intracelulares asociadas al cáncer pueden tener mayor selectividad contra las células cancerosas que contra las células normales, y producir mayor eficacia antitumoral con menor toxicidad para el paciente.²⁻⁴

Los detalles de la señalización intracelular son complejos, dado el gran número de vías existentes y la diversidad celular. La identificación de los principios generales compartidos por la mayoría de las vías facilitaría su comprensión y proporcionaría una imagen global y particular, para en un segundo momento valorar cada una de las vías oncogénicas y los fenómenos que le son propios.

En esta revisión se analizan los principios generales de las vías de señalamiento celulares fisiológicas y sus principales alteraciones en algunos modelos de células neoplásicas.

Principios generales en la transducción y transmisión de señales intracelulares

Las señales recibidas en la superficie de una célula son transmitidas al interior por una combinación de pequeñas y grandes moléculas de señalamiento intracelular. El resultado es una cadena de eventos que finalmente alteran las proteínas blanco, responsables de modificar el comportamiento celular. La fisiología de la transducción y transmisión de señales intracelulares presenta, en términos generales, ciertas etapas sucesivas:⁵⁻⁷

- Liberación de un primer mensajero o ligando (señales extracelulares) por células lejanas o locales, en relación con la célula blanco sensible.
- Recepción del primer mensajero. La mayoría de las moléculas señalizadoras no entran en las células, por lo que diferentes proteínas de la membrana celular actúan como receptores. Los receptores se ubican en la membrana celular y contienen componentes extracelulares, transmembranales e intracelulares. El lugar de unión del ligando con la porción extracelular del receptor es análogo bioquímicamente al centro activo de las enzimas. La interacción entre el ligando y el receptor altera la estructura terciaria o cuaternaria del receptor, incluido su dominio intracelular.
- Transmisión del mensaje dentro de la célula por el segundo mensajero. Pequeñas moléculas llamadas segundos mensajeros se utilizan para la transmisión de la información, éstas son generadas en grandes cantidades en respuesta a la activación del receptor y se difunden rápidamente, esparciendo la señal a otros compartimientos celulares. Son moléculas cuya concentración se modifica en respuesta a señales ambientales, y constituyen la siguiente etapa del circuito. Algunos segundos mensajeros importantes son el AMP cíclico, el GMP cíclico, los iones calcio, el inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG). A partir de los segundos mensajeros, la señal suele amplificarse ya que cada receptor activado puede generar muchas moléculas de segundos mensajeros. Así mismo, los segundos mensajeros pueden difundir libremente a otros compartimientos celulares, por lo que son comunes a varias vías de señalización celular o participan en fenómenos de conversación molecular cruzada (*cross talk*) adecuada, lo cual permite una regulación precisa de la actividad celular.
- Cascadas de señalización intracelular. Además, de una manera independiente o después del primer paso de la transducción del mensaje por los segundos mensajeros, la mayoría de las vías de señalamiento intracelular utilizan diferentes proteínas, las cuales transmiten la señal intracelular activando progresi-

vamente la siguiente proteína en la cadena. Esta gran variedad de proteínas participantes, de acuerdo a su función particular pueden ser clasificadas en proteínas que simplemente transmiten el mensaje, proteínas transportadores del mensaje (ej. del citosol al núcleo), proteínas adaptadoras (unen proteínas transmisoras), proteínas amplificadoras (incrementan la señal recibida y provocan cascadas de señalamiento), proteínas transductoras (convierte una señal a otra), proteínas de bifurcación, proteínas integradoras (reciben dos o más señales y las integran en una sola), proteínas reguladoras (relacionadas con la transcripción génica), proteínas moduladoras (modifican la actividad de otras proteínas), proteínas de anclaje (enlazan el mensaje a la membrana o al citoesqueleto), proteínas de esqueleto funcional (anclan varias proteínas que funcionan como complejos funcionales), principalmente.

Algunas proteínas de señalamiento intracelular funcionan como interruptores moleculares, principalmente a través del mecanismo de ganancia o pérdida de grupos fosfatos, lo que determina su activación o desactivación. Muchas de las proteínas de los señalamientos intracelulares son controladas por la adición covalente de grupos fosfato por otras proteína-cinasas. Otro tipo de proteínas que funcionan como interruptor molecular son las proteínas unidas a GTP, en ellas el interruptor es activado cuando la proteína se une a GTP e inactivado cuando la proteína es unida a GDP.

- e) Activación de efectores moleculares que alteran directamente la respuesta fisiológica. El efecto final de una vía de señalización intracelular particular es activar o inhibir las enzimas y factores de transcripción de genes que controlan directamente las vías metabólicas, o regulan los procesos celulares fundamentales o los correspondientes específicos.
- f) Finalización de la señal. Después de que la célula ha completado su respuesta a la señal, el proceso de señalización celular debe terminar, o las células perderían su capacidad de responder a nuevas señales. Un proceso de transmisión de señales que no finalice adecuadamente puede tener consecuencias indeseables. Muchos cánceres están asociados con procesos de transmisión de señales que no terminan adecuadamente, particularmente los que controlan el crecimiento celular.

La mayoría de las proteínas codificadas por los genes críticos del cáncer son participantes en las vías de señalamientos intracelulares que regulan el comportamiento social de las células en el cuerpo, particularmente los mecanismos por los cuales diferentes señales de células vecinas las impulsan a dividirse, diferenciarse o morir. En 2000, Hanahan y Weinberg⁸ propusieron un mapa preliminar de las seis principales vías de señalización relevantes para el desarrollo del cáncer humano (vigente en la actualidad), en el cual identificaron la participación de algunas proteínas modificadas por mutación (codificadas por oncogenes).

Ligandos y receptores celulares

De acuerdo a su estructura bioquímica, los ligandos pueden ser hidrosolubles, los cuales se unen a la matriz extracelular o a los receptores de la superficie celular; o liposolubles, si lo hacen a receptores citosólicos o nucleares. Estas biomoléculas o primeros mensajeros actúan generalmente en combinaciones múltiples y simultáneas, y con ello provocan efectos múltiples en los diversos procesos celulares. Las células son sensibles a la mayoría de las biomoléculas del entorno extracelular debido a que contienen dentro de la membrana celular o en el citosol receptores específicos para ellas. La unión del ligando a su receptor inicia una secuencia compleja, progresiva vertical y horizontal⁹ de reacciones bioquímicas de transmisión de la señal, que conducirán a la liberación de factores de transcripción de genes específicos y, finalmente, a la traducción de proteínas específicas implicadas en los cambios morfológicos/funcionales del fenotipo celular.

Las principales biomoléculas que inician las cascadas de señalamiento fisiológico intracelular incluyen factores de crecimiento (PDGF, EGF, FGF, TGF-β), factores anticrecimiento (TGF-β en algunas células), factores de muerte, factores de supervivencia, hormonas, citocinas, oligopeptidos, lípidos (prostaglandinas), oligonucleótidos, y señalamientos de la matriz extracelular y de células vecinas.

Los primeros mensajeros o ligandos son clasificados clásicamente de acuerdo con el sitio donde son producidos (relacionado con la ubicación del receptor), de tal forma que son endocrinos (a distancia, como hormonas), paracrinos (en el microambiente celular, como factores de crecimiento y citocinas) y autocrinos (producidos en la misma célula, como ciclinas, Rb).

Globalmente la afinidad de los receptores celulares por los ligandos es del orden de picomoles o nanomoles (constante de afinidad $>10^8$ moles/litro), y la unión del ligando con pocos receptores celulares es suficiente para iniciar el señalamiento intracelular. Por lo general cuando el ligando se une a los receptores específicos se producen cambios conformacionales u oligomerización de ellos, con lo cual se activa el señalamiento a través de la unión a proteínas adaptadoras y se genera una cascada intracelular de señales que alteran el comportamiento de la célula. La velocidad de respuesta de un receptor a un ligando extracelular depende no solo del mecanismo de transducción, sino también de la vía de transmisión. Si el efecto final corresponde a un cambio conformacional de la proteína, se requieren pocos segundos; si el efecto final involucra cambios en la expresión génica y la síntesis de nuevas proteínas, se necesitarán de minutos a horas.¹⁰

Muchos de los componentes que participan en las vías de señalamiento oncogénico intracelular han sido identificados como oncogenes y genes supresores tumorales. Los ligandos pueden unirse ocasionalmente a un receptor no específico y activarlo; por otro lado, un receptor activado puede también eventualmente activar otros receptores.

El mensaje de las señales extracelulares puede ser amplificado importantemente por la liberación de pequeños mediadores intracelulares (proteínas G asociadas a receptores) y por la activación de cascadas enzimáticas. Los receptores localizados en la superficie celular se clasifican en tres grandes grupos: receptores asociados a los canales iónicos, receptores asociados a las proteínas G (es la familia más grande de los receptores de superficie) y los receptores asociados a enzimas. Este último grupo es muy heterogéneo y funciona directamente como enzima o con enzimas, y frecuentemente es o está asociado a proteína-cinasa. Los receptores proteína-cinasa están conformados por un dominio extracelular (donde se une el ligando), uno transmembranal y un dominio citoplasmático (que contiene el dominio cinasa). La mayoría de los receptores transmembranales proteína-cinasa son tirosina-cinasa (ej. el PDFGR, la familia de los EGFR, el FGFR) y los menos son serina/treonina cinasas (ej. los TGF-βR). Los receptores más estudiados de este tipo son los de la familia de EGFR (EGFR, erbB2, erbB3, erbB4).⁵

Algunas de las vías de señalización intracelular activadas por ligandos que se unen a receptores de proteína-cinasa son reguladas o controladas por la acción de receptores de proteína-fosfatasa. El balance de la actividad de las proteína-cinasa y de las proteína-fosfatasa controla la fosforilación de la mayoría de las proteínas funcionales. Las células eucariotas contienen tirosina-cinasa, serina/treonina-cinasa, o ambas. Algunos receptores que no son tirosina-cinasa se unen a tirosina-cinasa citoplasmáticas (ej. Src, Syk, Jak). Una vez que una proteína-cinasa es activada, fosforila solo sustratos específicos en múltiples niveles y esto permite la regulación de las vías de señalización intracelular.

Receptores membranales asociados a proteínas G

Las proteínas G heterotriméricas (un tipo de proteínas G como veremos más adelante) transmiten señales a partir de la unión del ligando a receptores transmembranales de siete plegamientos o hélices (7TM).⁷ Cada tipo de receptor 7TM funciona a través de una proteína G distinta. Las proteínas G están compuestas por tres subunidades (α , β , γ), dos de ellas unidas covalentemente a los fosfolípidos de la capa interna de la membrana celular. La subunidad α es el sitio de unión al GDP/GTP. Algunas proteínas unidas a GTP se acoplan a diferentes receptores e inducen el inicio de la señalización intracelular. Los blancos de las proteínas G pueden ser tanto enzimas como canales iónicos. Algunas proteínas G regulan la producción de AMP cíclico (AMPc) a partir del ATP por medio de la enzima adenil-ciclasa; a su vez, el AMPc activa a la proteína-cinasa dependiente de AMPc (PKA), que cataliza la transferencia de fosfatos a serinas o treoninas de otras proteínas para regular su actividad. Algunas PKA regulan diversas proteínas de anclaje a la membrana y a los componentes del citoesqueleto.

Algunas otras proteínas G activan la vía del señalamiento de los fosfoinosítidos a través de la fosfolipasa C-β. Esta enzima

actúa sobre el fosfatidilinositol 4,5 bifosfato [PI(4,5)P2], el cual se encuentra en pequeñas cantidades en la mitad interna de la capa lipídica de la membrana celular y genera dos productos al romperse: el inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). El IP3 es una molécula pequeña hidrosoluble que difunde rápidamente al citosol, alcanza el retículo endoplásmico (ER) y abre sus canales de Ca²⁺, elevando la concentración de calcio en el citosol, el cual funciona como mensajero intracelular. El DAG a nivel de la membrana celular se rompe y libera ácido araquidónico, el cual permite la síntesis de otros pequeños mensajeros llamados eicosanoïdes, como las prostaglandinas; otra función importante del DAG es la activación de la proteína serina-treonina-cinasa C (PKC), dependiente de Ca²⁺. Diferentes proteínas que se unen al calcio sirven como transductores de señal, como la calmodulina; en otras ocasiones el calcio provoca efectos indirectos mediados por fosforilación de la proteína-cinasa dependiente de Ca²⁺/calmodulina (CaM-cinasa), que a su vez fosforila proteínas reguladoras de genes como el factor de transcripción CREB. La respuesta mediada por las proteínas G asociadas a receptores es apagada rápidamente cuando el ligando extracelular de transducción de señal es retirado. Un numeroso grupo de receptores ligados a las proteínas G está relacionado con los receptores de la visión y de la olfacción.

Receptores de membrana asociados a enzimas

Los receptores asociados a enzimas son el segundo principal tipo de receptores de superficie. Participan en las respuestas de señales de proteínas extracelulares que promueven el crecimiento, proliferación, diferenciación y supervivencia celulares en los tejidos animales. Estos señalamientos son llamados colectivamente factores de crecimiento y actúan usualmente como mediadores locales a muy bajas concentraciones (de 10⁻⁹ a 10⁻¹¹ M).¹⁰ La respuesta celular a ellos es típicamente lenta (del orden de horas) y generalmente requiere muchos pasos de señalamiento intracelular que conducen eventualmente a cambios en la expresión génica. Este tipo de receptores participa también en los efectos directos y rápidos sobre el citoesqueleto a través de mecanismos específicos (ej. regulación por proteólisis).

Las alteraciones en la proliferación, diferenciación, supervivencia y migración celulares que ocurren en el cáncer, están relacionadas con la alteración de los receptores asociados a enzimas. Se han identificado cinco clases de receptores de superficie asociados a enzimas en células eucariontes: receptores tirosina-cinasa, receptores asociados a tirosina-cinasa, receptores parecidos a tirosina-fosfatasa, receptores serina/treonina-cinasa y receptores guanidilciclasas (receptores no-cinasa ni asociados a cinasas citosólicas).

Los receptores tirosina-cinasa son los más numerosos de los receptores de superficie asociados a enzimas. Los receptores tirosina-cinasa se fosforilan a sí mismos cuando son activados por los factores de crecimiento o por hormonas. Los diferentes facto-

res de crecimiento incluyen el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), el factor de crecimiento parecido a la insulina-1 (IGF-1), el factor de crecimiento vascular/endotelial (VEGF), el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) y el factor de crecimiento de tejido nervioso (NGF). Otras proteínas que los estimulan son el gran grupo de eprinas (*ephrins*), que regulan la respuesta de adhesión y repulsión de las células.

Los receptores tirosina-cinatas pueden ser clasificados en 16 subfamilias, de acuerdo con el tipo de ligando. En todos los casos, cuando el ligando se une al dominio extracelular se activa el dominio tirosina-cinasa intracelular. Una vez activado, el dominio cinasa transfiere el grupo fosfato a otra tirosina de su cadena lateral (autofosforilación) o a otras proteínas de señalamiento intracelular. La activación de un receptor tirosina-cinasa provoca generalmente la oligomerización de dos receptores adyacentes.^{7,10}

La autofosforilación sirve como un encendedor/apagador que activa transitoriamente un gran complejo de señalamientos intracelulares y propaga la señal a través de múltiples rutas a muchos destinos en la célula. Las tirosinas fosforiladas sirven como sitios de acoplamiento con otras proteínas que contienen dominios SH2 intramoleculares, como la fosfolipasa C- γ , la tirosina-cinasa citoplasmática Src, y la fosfatidil 3'-cinasa (PI 3-cinasa).

La unión del EGF a su receptor provoca la dimerización del receptor, particularmente el extremo carboxilo terminal del receptor de EGF se fosforila y se desplaza hacia el centro activo de la cinasa compañera, efectuando el dímero la fosforilación cruzada. Las tirosinas fosforiladas de los receptores actúan como anclaje para el dominio SH2 de otras proteínas, iniciando el señalamiento mediante la unión de una proteína adaptadora llamada Grb-2. Después, Grb-2 recluta a una proteína Sos mediante dos dominios SH3; Sos, a su vez se une a Ras y lo activa (permite la salida de GDP y la entrada de GTP). Tanto Grb-2 y Sos actúan como intermediarios para activar a Ras. La proteína Ras activada inicia una cascada de proteína-cinatas (como veremos más adelante), uniéndose a Raf; Raf activa a las MEK, a su vez las MEK activan otras cinatas llamadas cinatas reguladas por señales extracelulares (ERK). Las ERK fosforilan a su vez numerosos sustratos como factores de transcripción en el núcleo, lo que conduce a cambios en la expresión de algunos genes que participan en funciones celulares de crecimiento, diferenciación, movilidad celular, citocinesis y de transporte de materiales a través de la célula. La señalización del EGF la finalizan fosfatases de estas proteínas y por medio de la actividad de retroinhibición intrínseca de Ras. Mutaciones del receptor del EGF o de las proteínas Ras activan inapropiadamente esta vía de transducción y transmisión de señales por el EGF.⁶

La superfamilia de las proteínas TGF- β , constituida por los TGF- β mismos, las activinas y las proteínas morfogénicas de hueso (BMP) actúan como ligandos de receptores serina/treonina cinatas e influyen en los procesos de proliferación, diferen-

ciación, producción de matriz extracelular y muerte celular, así como en la reparación tisular y en la regulación inmunológica. Una vez activado este tipo de receptores, utilizan una estrategia de rápida transmisión de señalamiento, similar a la de la vía Jak-STAT. Los receptores de los TGF- β se unen y fosforilan a una serie de proteínas latentes reguladoras de genes llamada familia Smad, luego el complejo Smad se mueve al núcleo donde recluta otras proteínas y se une a sitios específicos de ADN para activar su expresión génica. El receptor TGF- β -RII se encuentra frecuentemente mutado en algunos cánceres de colon.⁶ Otros receptores importantes en los señalamientos celulares son los receptores de las familias de Notch y de TNF, y los receptores de adhesión celular (a partir de las integrinas), los cuales se relacionan con el crecimiento/diferenciación celular, con la apoptosis y con la adherencia celular a la matriz extracelular, respectivamente.^{5,6}

Receptores de ligandos citosólicos/nucleares

Algunos ligandos hidrofóbicos pequeños se difunden dentro de la célula y se unen a receptores citoplasmáticos y nucleares. Estos ligandos incluyen hormonas esteroideas, hormonas tiroideas, eicosanoïdes, retinoides y la vitamina K.

Redes de multiproteínas participantes en las vías de señalamientos intracelulares

Los complejos proteicos de señalamiento intracelular conducen a aumentar la velocidad, eficiencia y especificidad de la respuesta.¹¹ La factibilidad de que una vía de señalización intracelular se active depende de la probabilidad de que una proteína encuentre su blanco, y esto depende de la proporción de sus concentraciones y de su afinidad por él, por lo que estos complejos proteicos se encuentran localizados en un compartimiento específico citoplasmático. Para que el mensaje final (factor de transcripción) sea transportado a través de los poros de la membrana nuclear y llegue a los genes de respuesta se requieren importinas y para que se realice el tránsito en sentido opuesto, exportinas.

Como parcialmente hemos mencionado, las interacciones de proteínas con otras proteínas o con lípidos requieren estructuralmente el contenido de dominios o pequeñas porciones peptídicas que guardan configuraciones tridimensionales específicas. Las proteínas pueden contener dos o más dominios intramoleculares que les permiten interactuar con dos o más proteínas diferentes, dichos dominios reconocen grupos bioquímicos funcionales como fosfotirosinas, fosfoserinas, regiones ricas en proliна, secuencias con C-terminal. Algunos ejemplos de estos son los dominios denominados SH2 (dominio de homología-2 a Src), PTB (dominio de uniones a fosfotirosina), WW, SH3, PDZ, etcétera. Los dominios SH2 y PTB contenidos en las proteínas Src, PI3-cinasa e IRS (sustratos del receptor de insulina) se unen

Cuadro I. Principales tipos de receptores que participan en la señalización celular

Tipos de receptor	Ejemplos de receptor
• Tirosina-cinasa	Receptores de PDGF, EGF, FGF y de insulina
• Serina-cinasa	Receptores de TGF-β
• Receptores acoplados a la proteína G heterotrimérica	Receptores de trombina y de la olfacción
• Receptores unidos a tirosina-cinasas	Receptores de la IL2 y de interferón
• Familia de los receptores de TNF	Receptores de Fas
• Receptores Notch	Receptores Notch
• Guanilato-ciclase	Receptores del factor natriurético atrial
• Tirosina-fosfatasa	Receptores de CD45 y LAR
• Receptores nucleares	Receptores de estrógenos y andrógenos
• Receptores de adhesión celular	Receptores de integrinas y CD44

PDGF = factor de crecimiento derivado de las plaquetas, EGF = factor de crecimiento epidérmico, FGF = factor de crecimiento de fibroblastos, TGF-β = factor de crecimiento transformante beta, IL2 = interleucina-2, TNF = factor de necrosis tumoral.

a residuos de fosftirosina. Algunas proteínas serina/treonina cinasas localizadas en la membrana celular, como Sos y CI contienen dominios de homología a pleckstrina (PH), que se unen a grupos polares de algunos fosfoinosítidos trifosforilados.^{7,10}

Las redes de los señalamientos intracelulares son muy complejas. Muchos elementos de las vías de transducción son recurrentes en distintas vías de transmisión de señales; así, las diferentes proteína-cinasas que participan en muchas vías de transducción/transmisión de señales fosforilan a sustratos específicos y ocasionalmente a sustratos no específicos. Así mismo, los diferentes segundos mensajeros participan en distintas vías de señalamiento en sentido horizontal y estimulan a diferentes proteínas especializadas de acuerdo con su concentración; por otro lado, diferentes dominios especializados que median interacciones específicas con grupos bioquímicos se encuentran presentes en diferentes proteínas de señalización intracelular.^{5,11}

Mecanismos de propagación de los señalamientos intracelulares

Una vez activados los receptores, la señal es propagada por medio de la participación de diferentes clases de enzimas, de ellas destacan las proteína-cinasas, las proteína-fosfatases, las lipocinasas, las lipofosfatases, las fosfolipasas, las proteínas G y las nucleótido-ciclasas.^{5,6} En los cuadros I y II se enlistan los principales tipos de receptores y las enzimas que participan en la propagación de los señalamientos intracelulares.

Regulación de las proteína-cinasas

Las proteína-cinasas (PK) son un grupo muy abundante de enzimas celulares, la secuenciación del genoma humano reveló que

cerca de 2% de nuestros genes codifican proteína-cinasas. La fosforilación de las proteínas (en residuos tirosina, serina-treonina o en ambos) es la principal modificación que regula la actividad proteínica; esto conduce, por ejemplo, a la formación de un puente

Cuadro II. Principales tipos de enzimas que participan en la propagación de los señalamientos intracelulares

Tipos de enzimas	Ejemplos
Proteína-cinasas	
Tirosina-cinasas	Jak
Serina/treonina-cinasas	ERK
Proteína-fosfatases	
Tirosina-fosfatases	SHP-2
Serina/treonina-fosfatases	Calcineurina
Lipocinasas	
Fosfatidilinositol	PI3-cinasa
Lipodifosfatases	
Fosfatidilinositol	SHIP, PTEN
Fosfolipasas	
A	CPLA2
C	PLCγ
Proteínas G	
Heterotriméricas	Gs, Gi
Parecidas a Ras	Ras, Rac
Ciclasas de nucleótidos	
Adenilato	
Guanilato	

ERK = cinasas por señales extracelulares, PI3-cinasa = fosfoinositido 3-cinasa, PTEN = phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PLC = fosfolipasa C.

intramolecular entre la tirosina fosforilada y algún dominio de la misma proteína (ej. dominio SH2), que modifica el acceso del ligando al sitio catalítico. Las proteínas adaptadoras de señalamientos intracelulares están compuestas predominantemente de dominios SH2 y SH3. Existen tres principales familias de PK: la familia de las tirosina-cinásas A (PKA) (son activadas por nucleótidos cíclicos como AMP), las B (PKB) o familia Akt (son activadas por PI3 o fosfatidilinositol) y las C (PKC) (son activadas por calcio y DAG). Otras dos familias importantes de las tirosina-cinásas son las cinásas dependientes de ciclina, y las cinásas dependientes de calcio-calmodulina.

Las tirosina-cinásas asociadas a receptores dependen de tirosina-cinásas citoplasmáticas para realizar su actividad. Las tirosina-cinásas citoplasmáticas también se oligomerizan para funcionar. La familia mayor de las tirosina-cinásas citoplasmáticas es la familia de proteína-cinásas Src; esta familia incluye a las Src, Yes, FGr, Fyn, Lack, Lyn, Hck y las Blk. Otro tipo de tirosina-cinásas citoplasmáticas llamadas cinásas focales de adhesión (FAK) se asocian con las integrinas. La unión de las integrinas a los componentes de la matriz extracelular pueden influir el comportamiento celular vía de las FAK.

Otro grupo de tirosina-cinásas citoplasmáticas llamadas Jak está asociado a los receptores de citocinas, de las hormonas de crecimiento y de la prolactina. Las cinásas Janus (Jak) activan proteínas reguladoras normalmente no activas (latentes) llamadas STAT (señales transductoras y activadores transcripcionales), a través de la vía de señalamiento Jak-STAT, que se considera una de las más directas para modificar la transcripción génica. Esta vía fue descubierta por el efecto que provocan los interferones en células vecinas (no infectadas) para inducir la producción de proteínas de resistencia a la infección viral. Cuando los receptores de interferones activan a las Jak, éstas fosforilan y activan a las STAT, una serie de proteínas reguladoras latentes, que se desplazan al núcleo y activan la transcripción de genes específicos. La respuesta mediada por STAT es regulada por un mecanismo de retroalimentación negativo y de fosforilación/desfosforilación. Los receptores de otras citocinas están compuestos de dos o más cadenas de polipéptidos; todos se encuentran asociados a diferentes tipos de Jak. Más de 30 diferentes citocinas y hormonas (ej. eritropoyetina) activan la vía Jak-STAT. Las señales de las proteína-cinásas son apagadas por el efecto de fosfatasas y por la influencia de la concentración de los segundos mensajeros.

El cáncer está estrechamente asociado con los defectos de proteínas transductoras de señales. Un ejemplo de proteína-cinásas mutadas en el cáncer es el oncogen v-Src. Su contraparte fisiológica, la c-Src, es una cinasa de tirosinas que tiene dominios SH2 y SH3 (región homóloga para Src), regula el crecimiento celular y contiene 19 aminoácidos terminales en el extremo carboxilo. La v-Src sustituye estos 19 aminoácidos por una secuencia de 11 aminoácidos completamente diferentes, que ha perdido una tirosina clave que se fosforila al inactivarse c-Src, por lo que v-Src se mantiene permanentemente activado.

Diferentes inhibidores de las proteína-cinásas mutadas pueden actuar como agentes antitumorales. Por ejemplo, en más de 90 % de los pacientes con leucemia mielocítica crónica, las células presentan el defecto cromosómico de translocación del material genético entre los cromosomas 9 y 22, lo cual provoca que el gen *c-abl* codifique una cinasa de tirosinas de la familia Src, que se une con el gen *bcr* del cromosoma 22. El resultado es la producción de una proteína de fusión Bcr-Abl, expresada a niveles muy superiores a los del gen que codifica la *c-abl* normal, y con ello activa una vía de señalamiento que estimula el crecimiento celular. Un inhibidor específico de la Bcr-Abl cinasa es el mesilato de imatinib, que ha demostrado ser muy eficaz en el tratamiento de pacientes que sufren leucemia mielocítica crónica.^{12,13}

Regulación de las proteína-fosfatasas

Las proteína-fosfatasas retiran los grupos fosfatos de las proteínas, lo cual inhibe o activa eventualmente las vías de señalamiento. El efecto de la fosforilación de las proteínas es transitorio y su desfosforilación se realiza por las fosfoproteína-desfosforilasas. Las tirosina-fosfatasas citoplasmáticas están conformadas por los dominios SHP1 y SHP2 (equivalentes a los dominios SH2 de las tirosina-cinásas) y regulan la respuesta de diferentes citocinas. Algunas de ellas tienen un segmento transmembranal como la proteína CD45, encontrada en la superficie de los leucocitos que participa en la activación de los linfocitos T y B en contra de抗ígenos extraños. El ejemplo más notable de proteína-fosfatasas mutadas en cáncer es la proteína supresora tumoral PTEN (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten*), también conocida como MMAC1 o TEP1.¹⁴ En ausencia de fosfatasas funcionales, la señalización iniciada por EGF se torna persistente, estimulando un crecimiento celular inapropiado.

Regulación por las proteínas G acopladas a receptores

Las proteínas G acopladas a receptores (GPCR) son el ejemplo más común de proteínas que regulan a otras proteínas y funcionan como apagadores digitales. Cuando se unen a GTP efectúan cambios conformatacionales que les permiten su unión a otras moléculas efectoras y ejecutan la transmisión de la señal. Una gran variedad de ligandos se une a las GPCR, entre ellos proteínas, péptidos, lípidos, aminoácidos y nucleótidos. Las GPCR están constituidas por dos clases: monoméricas (parecidas a Ras) y heterotriméricas. Las proteínas G pequeñas parecidas a Ras se clasifican en cinco subfamilias: Ras, Rho, Rab, Arf y Ran. Las familias Ras y Rho regulan el crecimiento celular y la participación de la actina en el citoesqueleto; las familias Arfy Rab regulan el tráfico de vesículas; la familia Ran regula la importación de moléculas al núcleo.^{6,7}

La proteína Ras actúa como una proteína transductora y de bifurcación del señalamiento, propagando la señal a través

de múltiples vías de señalamiento distales que regulan la proliferación y diferenciación celular. Diversas mutaciones de moléculas que participan en esta vía provocan estímulos inapropiados de la división celular y son un factor causal en muchos tipos de cáncer. Las proteínas Ras mutadas se mantienen en la forma activada, incluso en ausencia de una señal continua.

Ras fue la primera proteína descubierta como un producto hiperactivo del gen *ras* mutado que promueve el desarrollo del cáncer; en 30 % de los tumores humanos se presenta una mutación hiperactiva de *ras*. Las células de mamífero poseen tres proteínas Ras de 21 kD (H-, K- y N-Ras), cada una alterna cíclicamente entre una forma inactiva unida a GDP y una activa unida a GTP. Ras es un componente de la vía de señalamiento intracelular iniciada por el factor de crecimiento epidérmico (EGF).

Como otras proteínas que se unen a GTP, Ras funciona como un interruptor a partir del cambio de su estado conformacional: cuando se une al GTP es activado y se inactiva cuando lo hace con GDP. Dos tipos de proteínas regulan el estado de Ras: los factores que cambian nucleótidos de guanina (GEF) activan a Ras, y las proteínas con acción de GTPasa (GAP) que rompen la unión Ras/GTP lo inactivan. Las formas mutantes hiperactivas de Ras son resistentes al efecto de las GAP y se mantienen acopladas permanentemente a GTP, lo que favorece el crecimiento celular. La activación de otras proteínas parecidas a Ras, como Rho, se realiza a partir de la participación de los GEF. Una vez activado Ras, activa varias proteínas de señalamiento que transmiten la señal distalmente por varias vías. Una de ellas es una cinasa que fosforila una cascada de proteínas serina/treonina-cineras, llamada cinasa mitogénica activada (MAP-cinasa). La MAP-cinasa para ser activada requiere ser fosforilada tanto en una treonina como en una tirosina; a su vez, la proteína-cinasa que cataliza ambas fosforilaciones es la MAP-cinasa-cinasa (MEK). Así mismo, la MEK requiere ser fosforilada en tres componentes por la MAP-cinasa-cinasa-cinasa (Raf). La Raf es activada por el Ras activado. Una vez activada la vía MAP-cinasa distribuye la señal distalmente por medio de fosforilar otras proteínas en la célula, entre ellas proteínas reguladoras de genes y otras proteína-cineras. Algunas ciclinas que regulan la transición de las fases G1 a S en el ciclo celular son activadas por esta vía.¹⁰

Cuando la proteína Ras es activada por el receptor tirosina-cinasa, no solo es activada la vía de señalamiento de las MAP-cineras, sino otras más, entre ellas la vía del PI3-cinasa que participa en el crecimiento y supervivencia celulares.¹⁵ La PI3-cinasa fosforila el fosfatidilinositol (PI) generando dos tipos principales de inositolfosfolípidos: el PI(3,4)P2 y el PI(3,4,5)P3. Estos inositolfosfolípidos sirven como sitios de acoplamiento con proteínas de señalamiento intracelulares que distribuyen la señal. Los PI(3,4)P2 y PI(3,4,5)P3 son cortados por inositolfosfolípidos-fosfatases, que separan los fosfolípidos del anillo del inositol. Diferentes mutaciones que inactivan estas fosfatases (llamadas PTEN) prolongan el señalamiento de la vía PI3-cinasa y, como anotamos, son encontradas en diversos cánceres humanos. Dichas

mutaciones conducen a una supervivencia celular prolongada y mayor crecimiento celular. Otra manera por la cual los señalamientos de la vía PI3-cinasa aumentan la supervivencia celular es activando indirectamente la PKB (también llamada Akt).

Regulación por segundos mensajeros de pequeñas moléculas

Pequeñas moléculas mensajeras participan en la regulación de las vías intracelulares de señalamiento a través de su unión no-covalente a proteínas adaptadoras. El AMP cíclico (cAMP) fue el primero en ser descubierto, su blanco es la PKA y su unión con ella provoca cambios en la conformación que permite que se active su subunidad catalítica. Otro segundo mensajero es la fosfolipasa C (PLC), que activada por iones de calcio rompe los fosfoinosítidos PI(4,5)P2 (o fosfatidilinositol 4,5-bifosfato) y genera el inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG). El DAG interactúa con la PKC y el IP3, provocando la liberación del calcio acumulado en el reticuloendoplásmico. El ión calcio junto con la cascada de los fosfoinosítidos ocasiona múltiples efectos celulares como la regulación de algunas enzimas (ej. calmodulina, PKC), de canales iónicos y de niveles génicos de transcripción. Otros segundos mensajeros son los eicosanoïdes que participan en la regulación de las proteínas unidas a GTP.^{6,10}

Regulación de los señalamientos a partir de niveles de transcripción, de traducción y de proteólisis

Las vías de señalamientos intracelulares dependen de los tipos, niveles y actividades de las proteínas expresadas, lo cual repercute en el desarrollo, diferenciación y funciones específicas de los diversos tipos celulares. La expresión de las proteínas celulares es regulada principalmente en los niveles de transcripción y traducción y ocasionalmente en los niveles de proteólisis, que conducen finalmente a su concentración intracelular en diferentes momentos biológicos.⁵

Globalmente la estimulación de una sola vía de señalamiento intracelular conduce a la posibilidad de transcripción de decenas a cientos de genes. La eficiencia en la transcripción/traducción génica depende de varios subniveles que incluyen, entre otros, el estado de la estructura de la cromatina en la región del gen, las modificaciones de sus regiones promotoras y la actividad de los factores transcripcionales y coactivadores. Así, la traducción de señales, por ejemplo, está regulada, entre otros, por las acetilasas y desacetilasas de las histonas, que permiten o no la accesibilidad de la cromatina al aparato transcripcional.¹⁶

La traducción o síntesis de proteínas también está controlada en los subniveles específicos de iniciación, elongación y terminación a través de la maquinaria del ribosoma. En general, la síntesis de proteínas presenta escasos fallos, sus errores son raros tanto en la transcripción del mRNA (< 10⁻⁶), como en la lectura de los codones por las aminoacil-tRNA, o de la tRNA-sintetasa (aproximadamente 10⁻⁵).¹⁷

La unión de los factores de transcripción al promotor del gen es requerida para que la RNA polimerasa inicie la transcripción. Existen diferentes tipos de factores de transcripción que en conjunto permiten la transcripción del gen, de ellos, se distinguen tres grupos: los iniciadores o factores basales, los activadores y los coactivadores. Los factores de transcripción del tipo activadores se han clasificado de acuerdo con los tipos de dominios específicos de las proteínas que se unen a regiones específicas de DNA, entre ellos destacan los dominios en dedos de cinc, los dominios hélice-lazo-hélice y los dominios cremallera de leucina. El inicio de la transcripción requiere la unión de diversos factores moleculares en un orden preciso, que forman un complejo proteico junto con la RNA polimerasa.

Una alta proporción de oncogenes y genes tumorales supresores codifican factores transcripcionales. En general, la desregulación en la expresión o en la activación/desactivación de los factores transcripcionales, tanto como sus mutaciones y translaciones, desempeñan un papel importante en la tumorigénesis, en la progresión tumoral y en el proceso de metástasis. De entre las diferentes familias de factores de transcripción, cuatro de ellas han sido blanco molecular en protocolos clínicos de terapia anti-neoplásica: las familias del factor nuclear kappa-B (NF-κB), del activador-1 de proteínas (AP1), los miembros de la familia de los transductores y activadores de las señales de transcripción (STAT), y los receptores hormonales de esteroides (entre ellos los receptores estrogénicos y los androgénicos).¹⁸ La mayoría de las estrategias para inhibir los factores de transcripción anotadas se ha realizado mediante ensayos de terapia génica, empleando vectores virales recombinantes o silenciando genes por interferencia del RNA (RNA-i). Solo en muy escasos modelos de cáncer han sido identificados integralmente los factores de transcripción participantes, entre ellos en el melanoma,¹⁹ y en la leucemia linfoblástica de linfocitos T.²⁰ Más recientemente, los avances en el entendimiento de los mecanismos moleculares en la formación de metástasis han permitido una estrategia racional de terapia contra sus genes relacionados y sus vías de señalamiento intracelular.^{21,22}

Así mismo, la concentración de la mayoría de las proteínas está regulada por la tasa de destrucción o de proteólisis que ocurre tanto a través del proteosoma o del lisosoma. Muchas proteínas intracelulares tienen vida media corta, algunas sobreviven menos de 10 minutos, y por estas cualidades funcionan como proteínas reguladoras de procesos celulares específicos.

Algunas de las vías de señalamiento son reguladas por el proceso de lisis de las proteínas participantes y éstas son especialmente importantes en el desarrollo de numerosos tejidos animales; de ellas sobresalen las vías de Notch, Wnt y Hedgehog.

El señalamiento a través del receptor Notch (con dominios extracelular, transmembranal y citoplasmico) es activado por proteínas expresadas en la superficie de células vecinas, entonces, la proteasa preselina rompe su cola citoplasmica y ésta viaja al núcleo y se ensambla con el factor transcripcional CBF1, y

este complejo regula la transcripción de genes blanco. Otro ejemplo son los receptores Wnt que regulan la degradación de las β-cateninas, pequeñas proteínas (GF y factores de diferenciación) que son recibidas por los receptores encrespados (*frizzled*), parecidos a los receptores asociados a las proteínas G, y son transmitidos a través de una proteína citoplasmática llamada desaliñada (*dishevelled*). Este complejo proteico suprime una cascada de cinasas (CKI, GSK3 y otras proteínas como LRP, APC y axina) regulando la proteólisis de la β-catenina que participa en la adhesión intercelular por su unión a las cadherinas y a las actinas del citoesqueleto. Normalmente cualquier molécula de β-catenina que no se asocie con las cadherinas es rápidamente degradada en el citoplasma a partir de tres grupos de proteínas: la glicógeno sintasa-cinasa 3β, la proteína supresora tumoral APC (denominada a partir del adenoma poliposis coli, gen mutado en un tipo de adenoma colónico que ayuda a provocar la degradación de la β-catenina) y la axina (proteína de armazón que une las dos previas). En 80 % de los cánceres de colon se presentan mutaciones del gen APC, y dichas mutaciones inhiben que sus proteínas realicen la proteólisis de las β-cateninas, por lo que estas proteínas se acumulan en el núcleo y estimulan la transcripción de *c-myc* y otros genes, lo cual resulta en una incontrolada proliferación celular que promueve el desarrollo del cáncer. Las proteínas Hedgehog actúan a través de su unión a los receptores parchados (*patched*) y lisos (*smoothened*), en un proceso parecido al del sistema de la proteína Wnt. En ausencia de la señal de Hedgehog, la proteína reguladora *Cubitus interruptus* (Ci) es rota, actuando así como un represor transcripcional; por el contrario, la Ci es suprimida en presencia de la señal de Hedgehog, lo que permite la transcripción de los genes dependientes de Hedgehog. La activación de esta vía incrementa la liberación de algunos factores angiogénicos y de las ciclinas D1 y B1. El carcinoma basocelular es la neoplasia en el cual la vía Hedgehog se encuentra frecuentemente alterada.

Otro ejemplo de regulación por proteólisis es el de las proteínas NF-κB, las cuales normalmente se mantienen en un estado inactivo por el efecto de sus proteínas inhibidoras. Las proteínas NF-κB son proteínas reguladoras latentes que participan importantemente en las diferentes respuestas inflamatorias celulares, y en menor grado intervienen en el desarrollo de algunos tejidos.²³ Existen cinco tipos de estas proteínas: RelA, RelB, C-Rel, NF-κB1 y NF-κB2. Los señalamientos proinflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) y la interleucina-1 (IL1), se unen a sus receptores transmembranales específicos y activan a la proteína NF-κB, la cual se encuentra normalmente retenida en forma inactiva en el citoplasma. Una vez activada, la proteína NF-κB junto con otras proteínas coactivadoras enciende la transcripción de más de 60 genes relacionados con la respuesta inflamatoria. El TNF-α y la IL1 también favorecen la degradación de un conjunto de proteínas inhibidoras de las NF-κB, llamadas I-κB, a través de su fosforilación.

Los defectos en las vías de transducción de señales provocan la iniciación y progresión tumoral

Las células inician la tumorigénesis por alteraciones en las vías de señalización intracelular de siete principales módulos o rutas de vías de señalamiento (vías oncogénicas). Ellas incluyen múltiples alteraciones en la activación/desactivación de proteína-cinásas y lípido-cinásas, proteína-fosfatásas y lípido-fosfatásas, GTPasas, proteasas, lipasas, adenilato-ciclasas, que finalmente provocarán cambios en la transcripción, traducción y proteólisis fisiológica celular.

Las siete marcas fenotípicas clásicas reconocidas en la mayoría de las células cancerosas son: autosuficiencia en señales de crecimiento, insensibilidad para las señales anticrecimiento, evasión de apoptosis, potencial ilimitado de replicación, desarrollo de angiogénesis, invasión tisular y metástasis, y el desarrollo de diferentes estrategias para escapar de la respuesta del sistema inmunológico^{8,24} y están representadas por alteraciones en más de las 20 vías de señalamiento fisiológico intracelular, ahora llamadas vías oncogénicas.

Las células cancerosas contienen inicialmente defectos en los circuitos regulatorios que gobiernan la proliferación y homeostasis. La autosuficiencia en señales de crecimiento involucra a la mayoría de las vías donde participan los factores de crecimiento mitogénicos (GF) solubles. Muchas células cancerosas adquieren la capacidad de autosintetizar GF, como PDGF y TGF- α ; otras células presentan alteraciones de algunos receptores de superficie, como su sobreexpresión (ej. EGF-R/erbB, HER2/neu, receptores de matriz extracelular); o alteraciones en la transmisión intracitoplasmática de un señalamiento, como en la cascada Sos-Ras-Raf-MAPK. La sensibilidad celular para las señales anticrecimiento (ej. TGF- β) está modulada por la proteína retinoblastoma (pRb) y sus proteínas asociadas P107 y P130; este efecto es bloqueado cuando el pRb sufre mutaciones o es secuestrado por proteínas oncovirales. Las células tumorales cuando evaden la apoptosis pueden tener alterados los sensores o efectores de la maquinaria apoptótica por mutaciones de p53, sobreexpresión de Bcl-2, o alteración de la vía PI3-cinasa-AKT/PKB. El potencial ilimitado de replicación en las células neoplásicas se logra por autonomía en las señales de crecimiento, como la sobreexpresión de la enzima telomerasa, asociada a las condiciones descritas de evasión de la apoptosis. El desarrollo de la angiogénesis implica inicialmente la liberación de VEGF y del los FGF1 y FGF2 en el microambiente tumoral. La invasión tisular y metástasis por las células cancerosas implica la alteración de las moléculas de adhesión intercelular (CAM), entre ellas cadherinas e integrinas, a partir de mutaciones, represión transcripcional o alteración en la proteólisis, así como el incremento en la activación de proteasas extracelulares.

Las seis primeras rutas de alteraciones de las vías de señalamiento intracelular en las células neoplásicas coinciden o provocan diferentes niveles de inestabilidad del genoma, lo cual incrementa su mutabilidad. En la séptima ruta se ha demostrado que

las células cancerosas desarrollan dos principales estrategias para escapar de la respuesta del sistema inmunológico: la inmunoselección (ej. disminución de la expresión de moléculas HLA clase I) y la inmunosubversión (ej. producción de indolamina 2,3-dioxigenasa); la última por alteraciones en la vía del factor nuclear de transcripción NF- κ B.^{23,24}

Utilidad de los perfiles de expresión génica en la aplicación clínica

En el pasado, la mayoría de las terapias dirigidas contra el cáncer estuvieron basadas en evidencias empíricas derivadas de numerosos estudios clínicos. Los modernos protocolos del tratamiento del cáncer consideran en su diseño las diferencias en los perfiles de vías moleculares que se encuentran alteradas en cada uno.²⁵

Diferentes juegos (*kits*) para ensayos de investigación han sido diseñados para explorar el perfil de expresión de por lo menos 100 genes participantes de las siete vías oncogénicas de señalamientos intracelulares mediante PCR de tiempo real (*Human Cancer PathwayFinder PCR Array*) o empleando microarreglos de expresión DNA (*Human Genome U133 Plus. 2.0 Gene Chip Array*).

Ha iniciado la era de explorar el perfil de expresión de genes en pacientes con cáncer de mama con *kits* aprobados y comercialmente disponibles en Estados Unidos y Europa. La prueba diagnóstica Oncotype DX™, avalado por el estudio TAILORx (*Trial assigning individualized options for treatment for breast cancer*),^{26,27} permite decidir al clínico si en las pacientes con cáncer mamario con receptor estrogénico-positivo y sin ganglios axilares debe emplearse hormonoterapia sola o adicionada con quimioterapia. La prueba MammaPrint, avalada por el estudio MINDACT (*Microarray in node-negative disease may avoid chemotherapy*),^{28,29} identifica la expresión de 70 genes pronósticos y ayuda a decidir igualmente el tipo de tratamiento adyuvante en pacientes con cáncer mamario T1, T2, N0, y aquellas con uno a tres ganglios positivos.

Finalmente, concluimos que en la medida que nuestro conocimiento aumente sobre estas vías de señalamiento intracelulares oncogénicas, podríamos identificar algunos patrones de dichas alteraciones específicas como marcadores pronósticos y predictivos de la evolución clínica del paciente, o emplearlos como blancos en protocolos de intervencionismo terapéutico molecular.

Referencias

1. Khalil IG, Hill C. Systems biology for cancer. *Curr Opin Oncol* 2005;17: 44-48.
2. Cho WCS. Latest discoveries and trend in translational cancer research: highlights of the 2008 Annual Meeting of the American Association for Cancer Research. *Tec Cancer Res Treat* 2008;7:269-277.
3. Li Q-X, Yu DH, Liu G, Ke N, McKelvy J, Wong-Staal F. Selective anticancer strategies via intervention of the death pathways relevant to cell transformation. *Cell Death Differ* 2008;15:1197-1210.

4. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure N. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 2006;441:437-443.
5. Cantley L, Carpenter CL. Cell Signaling. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2008. pp. 67-77.
6. Ihle JN. Señalización intracelular. En: Abeloff MD, Armitage JO, Niderhuber JE, Kastan MB, McKenna WG, editores. *Oncología Clínica*. Madrid: Elsevier, Churchill, Livingstone; 2005. pp. 19-45.
7. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Bioquímica*. Sexta edición. Barcelona: Editorial Reverte; 2008. pp. 381-407.
8. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
9. Shafer R, Schramme A, Tchernitsa OI, Sers C. Oncogenic signaling pathways and deregulated target genes. *Rec Res Cancer Res* 2007;176:7-19.
10. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 4th ed. New York: Garland Science; 2002. pp. 831-906.
11. Figgeys D. Mapping the human protein interactome. *Cell Res* 2008;18: 716-724.
12. Valdespino GVM, Valdespino CVE. Terapia molecular en pacientes que no responden a los tratamientos convencionales. *Gac Med Mex* 2008;144:333-344.
13. Lin J, Arlinghaus R. Activated c-Abl tyrosine kinase in malignant solid tumors. *Oncogene* 2008;27:4385-4391.
14. Wang X, Jiang X. PTEN: a default gate-keeping tumor suppressor with a versatile tail. *Cell Res* 2008;18:807-816.
15. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature* 2006;441:424-430.
16. Valdespino V, Valdespino Castillo P. Mecanismos epigenéticos celulares y sus alteraciones en cáncer. *Gamo* 2008;7:80-92.
17. Lewin B. *Genes IX*. Boston: Jones and Bartlett Publishers; 2008.
18. Libermann TA, Zerbini LF. Targeting transcription factors for cancer gene therapy. *Curr Gene Ther* 2006;6:17-33.
19. Lesiak K, Sztiller-Sikorska M, Czyz M. Transcription factors in the development and progression of melanoma. *Postepy Hig Med Dosw* 2007;61:576-595.
20. O'Neil J, Look AT. Mechanisms of transcription factor deregulation in lymphoid cell transformation. *Oncogen* 2007;26:6838-6849.
21. Iizumi M, Liu W, Pai SK, Furuta E, Watabe K. Drug development against metastasis-related genes an their pathways: a rationale for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2008;1786:87-104.
22. Christofori G. New signals from the invasive front. *Nature* 2006;441:444-450.
23. Karin M. Nuclear factor-κB in cancer development and progression. *Nature* 2006;441:431-436.
24. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Rev Immunol* 2006;6: 715-727.
25. Van't Veer LJ, Bernards R. Enabling personalized cancer medicine through analysis of gene-expression patterns. *Nature* 2008;452:564-570.
26. Sparano JA, Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. *J Clin Oncol* 2008;26:721-728.
27. Zujewski JA, Kamin L. Trial assessing individualized options for treatment for breast cancer: the TAILORx trial. *Future Oncol* 2008;4:603-610.
28. Cardoso F, Van't Veer LJ, Rutgers E, Loi S, Mook S, Piccart-Gebhart MJ. Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial. *J Clin Oncol* 2008;26:729-735.
29. Mook S, Schmidt MK, Viale G, Pruneri G, Eekhout I, Floore A, et al. The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph node in an independent validation study. *Breast Cancer Res Treat* 2008;Jul 27 [Epub ahead of print].