

Bases moleculares del cáncer colorrectal

Katherine Andrea Palacio Rúa^{1,3}, Carlos Mario Muñetón Peña^{2,3}

RESUMEN

Se considera que el cáncer colorrectal (CCR) es un problema mundial de salud pública; es el tercer cáncer más común en hombres y el segundo en mujeres. Su distribución geográfica es variable: las tasas de incidencia son altas en países desarrollados de Europa, Norteamérica y Oceanía y bajas en países de regiones subdesarrolladas como África y Suramérica. Sin embargo, los datos de estudios recientes publicados por la Agencia Internacional de Investigaciones en Cáncer (IARC, *International Agency for Research on Cancer*) muestran un aumento rápido en la incidencia de CCR en los períodos 1983-1987 y 1998-2002 en países en vías de desarrollo (1), mientras que en países desarrollados la incidencia se ha estabilizado y en muchos casos ha disminuido (2). La carcinogénesis del CCR es un proceso de múltiples etapas, caracterizado por una gran inestabilidad genómica que permite la acumulación de mutaciones en protooncogenes y genes supresores de tumores, alteración en la expresión de genes y producción de proteínas no funcionales, que les confieren a las células ventajas de proliferación y aumento de la supervivencia. La inestabilidad genómica del CCR se produce por diferentes vías; entre las más importantes se encuentran: la de inestabilidad cromosómica (CIN), la de inestabilidad microsatelital (MSI) y la de metilación.

PALABRAS CLAVE

Genes Supresores de Tumor; Inestabilidad Cromosómica; Inestabilidad de Microsatélites; Metilación; Neoplasias Colorrectales; Oncogenes

SUMMARY

Molecular bases of colorectal cancer

Worldwide, colorectal cancer (CRC) is a public health problem; it is the third most prevalent cancer in men and the second in women. There are some geographical variations in its incidence, with high rates in many developed countries of Europe, North America and Oceania, and low rates in countries of less developed regions such as Africa and South America. Recent

¹ Ingeniera Biológica. Estudiante de maestría en Ciencias Básicas Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Biólogo. Magíster en Genética. Profesor asociado, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

³ Unidad de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Carlos Mario Muñetón Peña; cmuneton@quimbaya.udea.edu.co.

Recibido: junio 22 de 2011

Aceptado: septiembre 01 de 2011

studies on cancer, published by the International Agency for Research on Cancer (IARC), show a rapid increase in the incidence of CRC in developing countries between 1983-1987 and 1998-2002 (1), while in the developed world incidence has stabilized and in many cases decreased (2). Carcinogenesis of CRC is a multiple step process, characterized by high genomic instability that may lead to the accumulation of mutations in proto-oncogenes, tumor suppressor genes, repair machinery failures, epigenetic changes in DNA and production of non-functional proteins; these changes lead to cell proliferation advantages and an increase in cell survival. Genomic instability of CRC occurs through different pathways, the most important of which are: chromosomal instability (CIN), microsatellite instability (MSI) and methylation.

KEY WORDS

Colorectal Neoplasms; Chromosomal Instability; Genes, Tumor Suppressor; Methylation; Microsatellite Instability; Oncogenes

INTRODUCCIÓN

El cáncer colorrectal (CCR) se considera como un problema de salud pública en muchos países desarrollados; según los datos de Globocan 2008, es el tercer cáncer más común en hombres y el segundo en mujeres (1). Presenta una distribución geográfica variable con tasas altas de incidencia en muchos países desarrollados de Europa, Norteamérica y Oceanía; por el contrario, países subdesarrollados de África y Suramérica tienen una baja incidencia (2). Datos recientes de la Agencia Internacional de Investigaciones en Cáncer (IARC, por la sigla en inglés de *International Agency for Research on Cancer*) muestran un notable aumento en la incidencia de CCR en las últimas dos décadas en los países en vías de desarrollo (3), mientras que en los desarrollados la incidencia se ha estabilizado en algunos y en otros ha disminuido (4).

En Colombia, el registro poblacional de cáncer de Cali informa un aumento en las tasas de incidencia y mortalidad del CCR durante los años 1962-2005 (5). Según los datos del Globocan 2008, en ambos sexos, el CCR ocupa el sexto puesto en incidencia y el cuarto

en mortalidad (1); se presentan 4.107 nuevos casos al año, la mayoría de los cuales se detectan en estado avanzado.

Diversas alteraciones genéticas como mutaciones, anomalías cromosómicas y cambios epigenéticos inducen el desarrollo del CCR. Dichas alteraciones promueven la transformación de la mucosa normal del colon hacia un pólipo benigno, el cual evoluciona hacia adenoma temprano y este progresa luego hacia adenoma avanzado y finalmente hacia carcinoma (6).

Cerca del 80% de los casos de CCR ocurren de forma esporádica y el 20% restante se relacionan con la historia familiar. Mutaciones germinales en los genes APC, MLH1 y MSH2 son de alta penetrancia y predisponen a la aparición del CCR de tipo hereditario; mutaciones en estos genes originan la poliposis adenomatosa familiar (FAP, por la sigla en inglés de *familial adenomatous polyposis*) y el cáncer colorrectal no polipósico hereditario (HNPCC, por la sigla en inglés de *hereditary non-polyposis colorectal cancer*) respectivamente (7).

De otro lado, existen varias vías genéticas relacionadas con el desarrollo del CCR. La primera de ellas se denomina *supresora* o *tradicional*, que involucra la inactivación de los genes APC y TP53, la activación constitutiva del gen K-RAS y, también, mutaciones en otros genes. La segunda se conoce como la *vía mutadora* y se relaciona con mutaciones en los genes del sistema de reparación de bases mal apareadas (*mismatch repair genes*), principalmente los genes MLH1 y MSH2, que inducen la inestabilidad microsatelital (MSI, por la sigla en inglés de *microsatellite instability*), por la expansión de secuencias cortas de nucleótidos repetidos. Otra vía relacionada con el CCR es la *epigenética* que se caracteriza por la metilación de los promotores de diversos genes y que conduce a la inactivación de la expresión génica (8).

Por otra parte, muchos estudios informan que la inflamación crónica del intestino, la poca actividad física, una dieta baja en fibra, frutas y verduras, el consumo de alimentos ricos en grasas saturadas de origen animal, así como el de alcohol y tabaco, se deben tener en cuenta como factores de riesgo relacionados con el desarrollo del CCR (9).

El propósito de este artículo es describir las bases genéticas y moleculares del cáncer colorrectal, a la luz de los conocimientos recientes sobre su génesis;

asimismo, explicar las diferentes vías moleculares involucradas en su origen y progresión, como son las de inestabilidad cromosómica, inestabilidad microsatelital y metilación del ADN.

GENÉTICA MOLECULAR DEL CÁNCER COLORRECTAL

Inestabilidad genómica

La pérdida de la estabilidad genómica se relaciona con el desarrollo del CCR porque promueve la adquisición de múltiples mutaciones en diversos genes, acelera la progresión de la neoplasia por el aumento de la tasa de mutación en las células transformadas (10) y les confiere una ventaja de crecimiento por el aumento en la proliferación y deficiencias en la apoptosis. Se informa que en el CCR esporádico son necesarias al menos siete alteraciones genéticas diferentes para que ocurra la transformación hacia el fenotipo tumoral (11).

Específicamente, el CCR tiene una gran heterogeneidad genética, presenta alteraciones moleculares diferentes, lo

que ha permitido la identificación de varias vías genéticas para su desarrollo. La más común es la inestabilidad cromosómica o CIN (por la sigla en inglés de *chromosome instability*), caracterizada por la acumulación de anomalías cromosómicas (numéricas y estructurales) (6). El otro tipo de inestabilidad es la microsatelital o MSI que se origina por un error en el sistema de reparación de bases mal apareadas, lo que genera la expansión de secuencias cortas en tándem y un aumento en el número de mutaciones. Además, existe una forma de inestabilidad caracterizada por cambios epigenéticos en el ADN, que inactivan la expresión génica por la metilación de los promotores de determinados genes o por cambios en el patrón de metilación de proteínas como las histonas (6-8).

En 1990, Fearon y Vogelstein (6) publicaron un modelo genético que describe la carcinogénesis colorrectal y explica la transición del epitelio normal hacia carcinoma esporádico. Las alteraciones se originan por diversas mutaciones adquiridas en células somáticas, que ocasionan la inactivación de genes supresores de tumores como APC, DCC y TP53 y la amplificación de oncogenes como K-RAS y β -catenina (figura 1).

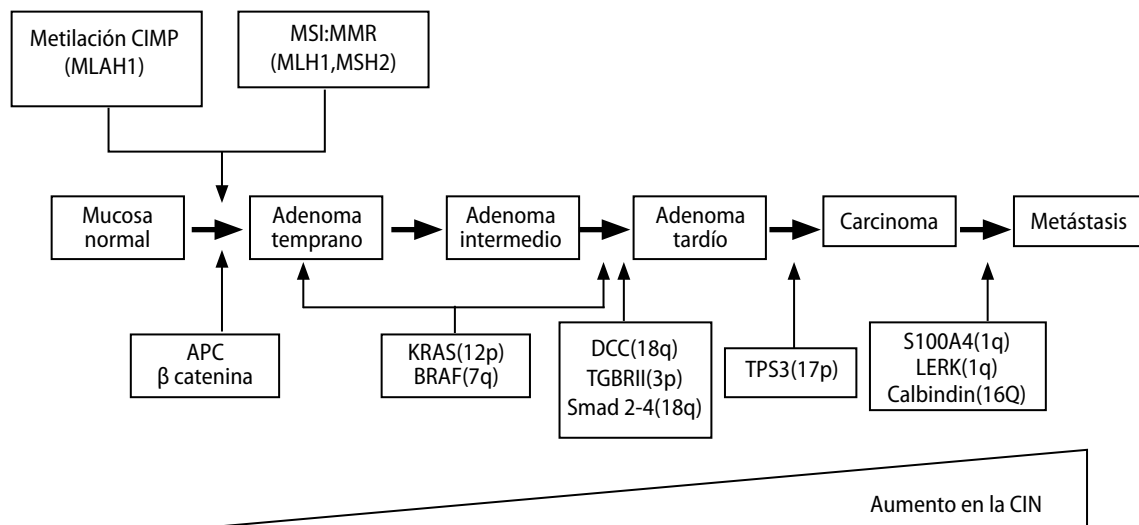


Figura 1. Se ilustra la secuencia del modelo genético de la carcinogénesis colorrectal propuesto por Vogelstein (6), que explica la progresión del CCR desde la mucosa normal del colon hacia el carcinoma. Se describen las diferentes vías relacionadas con el origen del CCR: la supresora, mutadora y la de metilación. CIN: inestabilidad cromosómica. MSI: inestabilidad microsatelital. CIMP: Fenotipo de Metilación de las islas CpG. MMR: genes del sistema de reparación de bases mal apareadas.

Estudios recientes informan nuevas vías moleculares involucradas en el desarrollo del CCR; algunas de estas se relacionan con los genes sugeridos en el modelo de Vogelstein. Lo anterior demuestra que el CCR puede originarse por múltiples vías moleculares debido a su gran heterogeneidad genética. Además, algunas alteraciones moleculares se asocian con las características clínicas de los pacientes con CCR (12).

Por otro lado, en cerca del 5% de los casos el CCR se presenta en forma hereditaria, con un patrón de herencia autosómico dominante, en el que existe una predisposición al desarrollo de tumores benignos o malignos en el intestino (7). Entre los tipos de CCR hereditarios se encuentran la poliposis adenomatosa familiar (FAP) y el síndrome de Lynch o cáncer colorrectal no polipósico hereditario (HNPCC). Ambos síndromes se caracterizan porque en más del 80% de los casos el gen APC para FAP y los genes MLH1 y MSH2 para HNPCC tienen mutaciones germinales con alta penetrancia, por lo que la mayoría de los individuos que tienen un alelo mutado expresan el fenotipo a edades tempranas (13).

Vía de la inestabilidad cromosómica (CIN)

Es la más común en la carcinogénesis del CCR esporádico: entre 70% y 85% de los casos se originan por la vía CIN o tradicional, también llamada vía supresora (12). Se caracteriza por cambios en el número de los cromosomas (aneuploidías) o anomalías estructurales, pérdida de heterocigidad (LOH, por la sigla en inglés de *loss of heterozygosity*) y mutaciones en genes supresores de tumores y protooncogenes (14). Dichas alteraciones se originan por defectos en las proteínas responsables de los puntos de control en el ciclo celular y en la respuesta al daño del genoma y por modificaciones en diversas proteínas que controlan la segregación de cromosomas en la fase M del ciclo celular (15).

El desarrollo del CCR por la vía CIN, según el modelo propuesto por Vogelstein, se inicia por mutaciones en el gen APC, que producen una proteína defectuosa que impide la degradación de la β -catenina y conducen a la formación de un adenoma benigno en el epitelio intestinal (6). Posteriormente ocurre una segunda mutación en el gen K-RAS, que aumenta la tasa de proliferación y causa la transformación celular hacia un adenoma avanzado; luego, ocurren mutaciones en

otros genes, DCC, SMAD y TP53, hasta que se avanza al CCR; estas alteraciones le confieren una ventaja de crecimiento a la célula y le proporcionan un alto potencial de metástasis (figura 1). En la tabla 1 se presentan los porcentajes informados de mutaciones en estos genes. A continuación se describen de una forma más detallada los genes involucrados en la vía CIN del CCR.

Gen APC (5q21)

APC (*adenomatous polyposis coli*) es un gen supresor de tumores, en el que se presenta el primer cambio genético dentro de la secuencia de la carcinogénesis colorrectal. Tiene 15 exones y codifica para la proteína APC de 312 kD y compuesta por 2.843 aminoácidos (16). El exón 15 representa cerca del 75% de la región codificante del gen en donde se encuentra la mayoría de las mutaciones descritas en la literatura, principalmente en una región denominada MCR (por la sigla en inglés de *mutation cluster region*), que se localiza entre los codones 1.286 y 1.513; las mutaciones en esta región conducen a la inactivación del gen (17).

Estructuralmente, la proteína APC es compleja, posee múltiples sitios de interacción proteína-proteína, entre los que se incluyen sitios de unión a las proteínas β -catenina, EB1 y axina (18). La mayoría de las mutaciones puntuales en APC generan un codón de parada en el mRNA, cuyo resultado es la pérdida de las funciones en el extremo carboxilo terminal de la proteína, en donde se encuentran los sitios de unión a la β -catenina y la axina (10). Otras mutaciones comunes son inserciones o deleciones que generan una alteración en el marco de lectura del mRNA. (19).

El gen APC participa en muchas funciones biológicas, como son la migración y adherencia celulares, la segregación cromosómica, el ensamblaje del huso mitótico, el control del ciclo celular y la reparación del ADN (20). Además, cumple una función importante en la vía de señalización Wnt, que es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis del epitelio intestinal, la adherencia intercelular, la estabilización del citoesqueleto, la regulación del ciclo celular y la apoptosis (21). La principal función de APC es prevenir la acumulación de β -catenina cuando la vía Wnt se encuentra inactiva; también, la de limitar la transcripción de diversos genes como c-Myc y

ciclina D1 (22). Asimismo, mutaciones que alteran la función de la proteína APC permiten la estabilización de la β -catenina, su traslación al núcleo, en donde se acumula e induce una sobreexpresión de genes que confieren una ventaja de proliferación a la célula (22).

De otro lado, mutaciones germinales, que producen una pérdida de función en uno de los alelos del gen APC, se asocian con el desarrollo de la poliposis adenomatosa colónica (FAP), un tipo de cáncer hereditario cuyo patrón de herencia es autosómico dominante y que tiene una penetrancia del 100%; se caracteriza por el desarrollo de miles de pólipos adenomatosos en el colon durante la segunda y tercera décadas de la vida, que progresan a tumores malignos en cerca del 100% de los casos en los que no se hacen oportunamente el diagnóstico y el tratamiento (19,23).

En la literatura se han informado más de 800 mutaciones en el gen APC, 95% de las cuales son sin sentido o mutaciones que cambian el marco de lectura, lo que origina la formación de un codón

de parada y la posterior síntesis de proteínas APC anormales (16). Además, se describen algunos polimorfismos en este gen que se asocian con un mayor riesgo de desarrollar adenomas en el colon, debido a la penetrancia incompleta de estas variantes genéticas que pueden tener actividad reducida (9).

Gen K-RAS (12p12)

El protooncogén K-RAS posee seis exones; el exón 1 no codifica y los exones 4, 5 y 6 presentan corte y empalme (*splicing*) alternativo, lo que origina diferentes variantes de la proteína K-RAS (24).

K-RAS pertenece a la familia de genes RAS, que codifican para tres proteínas: H-RAS, N-RAS y K-RAS de 21 kD (p21RAS), las cuales tienen una actividad GTP-asa. K-RAS es una proteína G que actúa como interruptor molecular y permite la transducción de señales del exterior hacia el interior de la célula. Esta proteína actúa de forma cíclica desde un estado de unión a GDP, en el que se encuentra inactiva, hacia un estado activo en el que se une a GTP en respuesta a

Tabla 1. Genes supresores de tumores y oncogenes frecuentemente asociados con el cáncer colorrectal

APC	30%-85%	Inhibición de la vía de señalización Wnt y regulación de la transcripción de genes.	Mutaciones que cambian el marco de lectura de la proteína y en algunos casos generan una proteína truncada.	Mutaciones germinales se asocian con FAP.
K-RAS	30%-50%	Proliferación celular, angiogénesis y supresión de la apoptosis.	Cambios en los codones 12 y 13 activan constitutivamente la proteína.	Los pacientes con mutaciones en K-RAS tienen mal pronóstico. Es útil en la predicción de la respuesta al tratamiento con inhibidores de EGFR.
TP53	25%-75%	Regulación del ciclo celular e inducción de la apoptosis.	Mutaciones que codifican para una proteína incompleta o con baja actividad; las mutaciones ocurren principalmente en los exones 5 al 9.	Mutaciones germinales se asocian con el síndrome de Li-Fraumeni.
DCC	60%	Receptor de membrana de netrina 1 Diferenciación y crecimiento celulares, apoptosis.	Pérdida alélica, inactivación por inserciones o mutación homocigótica en el 6% de los casos.	Los pacientes con LOH en 18q parecen tener mal pronóstico. Predicen la resistencia a la terapia con 5-FU.
SMAD 2/4	60%	Permiten la transducción de señales del TGF- β .	Pérdida alélica y disminución de la transcripción, las mutaciones son infrecuentes.	Mutaciones germinales generan poliposis juvenil y hamartomas poliposos.

la estimulación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, por la sigla en inglés de *epidermal growth factor receptor*), el cual promueve el funcionamiento de los factores de intercambio de guanina (GEF, por la sigla en inglés de *guanine exchange factor*) y posteriormente la activación de K-RAS (25). La estimulación de las proteínas RAS inicia una cascada de señalización, que modifica la expresión de múltiples genes encargados de la regulación del ciclo celular, la apoptosis, la migración, el crecimiento, la quimiotaxis y la diferenciación celular (26). La regulación de la actividad de RAS está determinada por su actividad GTP-asa intrínseca, mediada por las proteínas potenciadoras de la actividad GTP-asa (GAP).

Las mutaciones puntuales más frecuentes ocurren en los codones 12, 13, y con menor frecuencia en el codón 61, lo que puede ocasionarle pérdida de su actividad GTP-asa y, de esta forma, la proteína se expresa de manera constitutiva (12). Estas mutaciones afectan la vía de señalización RAS-RAF-MAPK y permiten la estimulación de la vía de señalización RAS-MAPK independiente de la regulación del EGFR, lo que a su vez promueve el crecimiento, la proliferación y la supervivencia celulares (27). Además, en esta cascada de señalización dirigida por K-RAS también está involucrado B-RAF; esta es otra vía para la activación de las MAPK quinasas en el desarrollo del CCR.

Las mutaciones puntuales en el gen K-RAS ocurren en un 98% en los codones 12 y 13 (28); las mutaciones en estos codones generalmente se relacionan con un mal pronóstico en los pacientes y se asocian con resistencia a la terapia anti-EGFR (26,29). También se informan mutaciones en los codones 61 y 146 en una proporción menor del 10% (30). Igualmente, se informan mutaciones con una baja frecuencia en otros codones como 10, 11, 15, 18 y 22, pero su importancia biológica aún no está bien establecida (31).

De otro lado, el gen K-RAS se encuentra alterado en diferentes tipos de cáncer, entre ellos los de vesícula biliar, páncreas y estómago (32). Las mutaciones en este gen se presentan en 32% a 42% de los casos de CCR (12); además, varios estudios demuestran que los adenomas tempranos (benignos) tienen un menor porcentaje de mutaciones en K-RAS, comparados con los adenomas avanzados (12).

Por otra parte, un aspecto importante de las diversas terapias antineoplásicas en los pacientes con CCR que tienen como blanco terapéutico la vía de señalización de K-RAS es el uso de inhibidores de tirosina-quinasa asociados con EGFR (EGFR-I), o anticuerpos monoclonales contra el EGFR; varios estudios informan que las mutaciones en el gen K-RAS se relacionan con la resistencia a la apoptosis inducida por los medicamentos, tales como panitumumab o cetuximab, lo que disminuye la efectividad en el tratamiento de los pacientes con CCR metastásico (33). Por lo anterior, se considera que el gen K-RAS es un biomarcador predictivo importante en la terapia para los pacientes con CCR metastásico.

Gen B-RAF (7q34)

El protooncogén B-RAF (por la sigla en inglés de *B-type rapidly accelerated fibrosarcoma*) está compuesto por 18 exones y codifica para una proteína con actividad serina-treonina quinasa, que actúa en la vía de señalización RAS-RAF-MAPK (34). Se han descrito diferentes mutaciones que activan constitutivamente a B-RAF en varios cánceres como el melanoma, el de tiroides y el CCR. Estas mutaciones permiten la fosforilación y activación de las proteínas MEK y ERK, lo que genera un aumento en la transcripción de diversos genes que promueven una mayor proliferación y supervivencia celulares (34). En 5% a 15% de los casos de CCR se han informado mutaciones en el gen B-RAF, la mayoría en el exón 15, debido a un cambio de ácido glutámico por valina en el codón 600 de la proteína (V600E) (35). Estas mutaciones ocurren aproximadamente en 91% de los CCR esporádicos con MSI alta (MSI-H), pero no se observan en los pacientes con el síndrome de Lynch. Por lo anterior, es importante la determinación de mutaciones del gen B-RAF en pacientes con CCR, porque permite distinguir subgrupos de tumores con MSI-H de tipo esporádico de los del síndrome de Lynch (34,35). Además, estudios recientes informan que el gen B-RAF podría considerarse como un biomarcador predictivo y pronóstico, puesto que los pacientes con B-RAF mutado no tienen una buena respuesta a los tratamientos basados en EGFR-I y, además, presentan mal pronóstico (36,37).

Gen DCC (18q21.1)

DCC (por la sigla en inglés de *deleted in colorectal cancer*) es un gen supresor de tumores que posee 29 exones y codifica para un receptor transmembranal de 1.447 aminoácidos (38). Este gen está involucrado en la apoptosis y en la adherencia, diferenciación y crecimiento celulares mediados por las interacciones intercelulares (38,39). Se informa que un aumento en los niveles de DCC induce la apoptosis por activación de la vía de la caspasa 3 y suprime la metástasis de células tumorales (40).

Las alteraciones de DCC se deben principalmente a la pérdida alélica en la región 18q21, que ocurre en 70% de los casos de CCR. Por otra parte, existen otros genes supresores de tumores ubicados en la región cromosómica 18q21, que también son inactivados por pérdidas alélicas; estos son: DPC4 (por la sigla en inglés de *deleted in pancreatic cancer*) y MADR2 (por la sigla en inglés de *mothers against decapentaplegic related protein-2*) (41).

Por último, las mutaciones puntuales (6%) e inserciones en el gen DCC ocurren con una baja frecuencia en el CCR; las alteraciones más comunes son la LOH (70%) y la reducción o pérdida de la expresión. Anomalías en este gen también se observan en otros tipos de cáncer entre ellos los de estómago, esófago, próstata, endometrio, ovario, mama y testículo (38,41).

SMAD (18q)

La familia SMAD está compuesta por ocho genes diferentes, que codifican para diversas proteínas de señalización celular que regulan el crecimiento y la diferenciación celulares. Su ubicación en el genoma es diversa: los genes SMAD 2, 4 y 7 se encuentran en el cromosoma 18q21, los SMAD 3 y 5 en la región 15q21-q22 y los SMAD 1 y 9 en los cromosomas 4q31.21 y 13q12-q14, respectivamente (42).

En los mamíferos las proteínas Smad se dividen en tres grupos: el primero comprende las proteínas de unión a receptores Smad (R-Smad) compuestas por Smad 2 y 3, que tienen como función traducir la señal de TGF- β , y las Smad 1, 5, 8 que traducen las señales de la proteína morfogenética ósea (BMP, por la sigla en inglés de *bone morphogenetic protein*). En el segundo grupo está la proteína Smad 4, un cofactor para ambos receptores que se une a las R-Smad y

permite la translocación al núcleo (42). Por último, se encuentran las proteínas inhibidoras Smad (I-Smad) compuestas por Smad 6 y 7 (43). Dichas proteínas hacen parte de la vía de señalización del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) y tienen como función enviar al núcleo las señales inducidas por dicho factor y potenciar la transcripción de múltiples genes. La señalización se inicia cuando diferentes variantes de la familia de TGF- β , como TGF- β 1, - β 2, - β 3 o BMP se unen al complejo de receptores tipos I y II de TGF- β con actividad serina/treonina-quinasa, y permiten la propagación de la señal mediante la fosforilación del receptor de Smad (R-Smad) (44). Estos receptores interactúan con el factor de transcripción Smad 4 y al heterodimerizarse promueven su transporte al núcleo, donde reconocen y se asocian a secuencias Smad de unión al ADN y marcan algunos genes, potenciando o reprimiendo su transcripción mediante el reclutamiento de coactivadores, correpresores y factores de remodelación de la cromatina (45).

Alteraciones en el gen SMAD4 (DPC4) se presentan entre 16% y 25% de los casos de CCR, mientras que un 6% ocurre en SMAD2; cuando estas alteraciones ocurren en la línea germinal de los individuos generan poliposis juvenil y hamartomas poliposos (46).

Gen TP53 (17p13)

TP53 es un gen supresor de tumores que contiene 11 exones, de los cuales, el 1 y el 11 no traducen proteínas; codifica para una fosfoproteína nuclear de 53 kD (la p53) con capacidad de unirse al ADN y actuar como un activador transcripcional (21).

TP53 se activa como respuesta a múltiples daños inducidos por factores exógenos y endógenos del ADN, por ejemplo la radiación y los radicales libres (47). Este gen es el encargado de mantener la estabilidad del genoma, porque controla el ciclo celular mediante la activación de la transcripción de múltiples genes, entre estos el p21 que detiene el ciclo celular para permitir la reparación del ADN. Además, TP53 participa en la replicación del ADN y en la apoptosis (21).

Por otro lado, TP53 se encuentra alterado en cerca del 50% de todos los tipos de cáncer, entre ellos los de ovario, colorrectal, de cabeza, pulmón, hígado, mama, tiroides y estómago. La mayoría de las mutaciones puntuales ocurren en los exones 5 a 8,

que codifican los codones 130 al 286, en donde se encuentra el dominio de unión al ADN; mutaciones en este gen se asocian con estados avanzados del cáncer, como se ha demostrado en el CCR.

Las mutaciones en el gen TP53 ocurren principalmente por cambio de sentido (73,4%); otras alteraciones son las inserciones, deleciones en la región 17p13 que alteran el marco de lectura (9,02%), mutaciones sin sentido (7,67%) y silenciosas (4,26%) (48). Específicamente en el CCR, ocurren mutaciones puntuales en los codones 175, 245, 248, 273 y 282 aproximadamente en 43% de los casos.

Finalmente, en el gen TP53 se han identificado más de 80 polimorfismos, muchos de los cuales se asocian con un mayor riesgo de desarrollar CCR y también otros tipos de cáncer; un ejemplo de lo anterior es el polimorfismo localizado en el codón 72, que es muy frecuente y se ha estudiado en muchas poblaciones con diversos tipos de neoplasia (48). Además, se ha observado que mutaciones en TP53 y polimorfismos en el codón 72 se relacionan con la inhibición de la apoptosis, lo que disminuye la eficiencia de las drogas antineoplásicas en los tratamientos de pacientes con cáncer (49).

Vía de la inestabilidad microsatelital (MSI)

La MSI se conoce como la *vía mutadora* y ocurre en el 20% de los casos de CCR. Se caracteriza por fallas en los mecanismos de reparación de bases mal apareadas o MMR (por la sigla en inglés de *mismatch repair*). Los genes MMR actúan en la fase S reparando errores en el ADN producidos por el mal apareamiento de bases o como consecuencia del deslizamiento de la ADN-polimerasa durante la replicación de secuencias altamente repetidas (50). Los defectos en estos genes tienen como resultado la aparición de mutaciones puntuales, así como inserciones-deleciones (IDL) que cambian el marco de lectura y producen un codón de parada prematuro, que codifica para una proteína no funcional (51).

La MSI se detecta al comparar el número de copias de los microsatélites de las células tumorales con el de las células normales; por lo general, las células tumorales tienen un mayor número de copias de microsatélites. Los genes que contienen secuencias repetidas dentro

de la región codificadora (22), tales como APC, MLH1, TGF/BR11 y BAX (52), tienen un mayor riesgo de MMR.

El sistema MMR está conformado por siete genes de reparación: hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 y hPMS2 (8,12). Hasta el presente, se informan más de 500 mutaciones diferentes en todos los genes MMR; sin embargo, no se ha encontrado asociación entre las mutaciones en los genes PMS1 y PMS2 y el desarrollo del CCR.

Otro de los mecanismos que afectan la expresión de los genes MMR es la metilación de las islas CpG de los promotores. La inactivación del gen MLH1 ocurre por metilación de la región 3' del promotor, cercana al codón de iniciación. También se ha descrito la metilación de la región 5' de este promotor, pero no afecta la expresión del gen (8).

Los genes más importantes del sistema MMR relacionados con el CCR son el MLH1 y el MSH2, en los cuales ocurre más del 90% de las mutaciones. El gen MSH2 se localiza en el cromosoma 2p21, posee 16 exones y 2.805 nucleótidos; su función es formar complejos en dímeros con MSH3 o MSH6 durante la reparación del ADN (51). Por otra parte, el gen MLH1 se localiza en el cromosoma 3p21-23, posee 19 exones y 2.269 nucleótidos (52). En este gen se ha identificado el mayor número de mutaciones que generan la pérdida total del sistema MMR porque, junto con PMS2, permite la interacción de las enzimas encargadas de la escisión de nucleótidos con las proteínas que reconocen el daño en el ADN (51).

Mutaciones germinales en los genes MMR predisponen al cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC) o síndrome de Lynch, que está presente en cerca del 3% de todos los casos de CCR (38). Este síndrome es autosómico dominante, con alta penetrancia (85%) y se caracteriza por un proceso acelerado de carcinogénesis (49), por lo que se manifiesta en individuos menores de 50 años. La mayoría de las mutaciones ocurren en los genes MLH1 y MSH2 y se informan más de 500 mutaciones patogénicas: 50% en MLH1, 40% en MSH2 y 10% distribuidas entre los otros genes MMR (50,53).

Finalmente, los análisis de MSI se realizan con un panel de marcadores STR (por la sigla en inglés de *short tandem repeat*), conocidos como panel de Bethesda, entre los que se encuentran los polinucleótidos

de adenina BAT25, BAT26 y BAT40, además de los dinucleótidos repetidos D5S346, D2S123, D17S250. De acuerdo con el número de repeticiones, los tumores se clasifican como MSI alta (MSI-H), cuando muestran dos o más marcadores inestables y MSI baja (MSI-L) cuando tienen inestable un solo marcador; por el contrario, en los tumores MSI estables (MSI-S) no se encuentra inestabilidad en ninguno de los cinco STR. Los análisis de MSI son útiles para la tamización molecular de individuos con sospecha de HNPCC (9), puesto que este síndrome se relaciona con una alta frecuencia de MSI-H, mientras que los CCR esporádicos tienen un porcentaje menor cercano al 20% (54).

Vía de la metilación

La aparición del CCR puede ocurrir por mecanismos epigenéticos que inactivan la expresión de diversos genes, principalmente por la metilación del ADN y por otros tipos de modificaciones en proteínas como las histonas. La metilación del ADN es la segunda vía genética más común en el CCR esporádico, se presenta aproximadamente en 15% de los casos y consiste en la unión de un grupo metilo en el carbono 5 de la citosina por acción de las enzimas ADN-metiltransferasas, lo que genera la 5 metil-citosina, también denominada la quinta base (45,55).

Las modificaciones por metilación ocurren en las citosinas de los dinucleótidos CpG, conocidas como *islas CpG*, que se localizan en los promotores de casi la mitad de todos los genes y se encuentran generalmente no metiladas en células normales (49). En las células cancerosas, la hipermetilación de las islas CpG de los promotores genera la inactivación en la expresión de diferentes genes, como los supresores de tumores y los de reparación (45). Este fenómeno de hipermetilación se conoce como *fenotipo de metilación* de las islas CpG o CIMP (por la sigla en inglés de *CpG island methylator phenotype*). Por el contrario, la hipometilación de los promotores de algunos genes ocurre en estadios avanzados del cáncer y se caracteriza por el aumento en la transcripción génica (45).

En el CCR, se determina el CIMP empleando diferentes marcadores genéticos para clasificar el tumor en dos grupos: CIMP+ (positivo) y CIMP- (negativo).

Dependiendo de los marcadores utilizados, el CIMP+ se detecta en 24% a 51% de todos los casos de CCR (56). Además, cerca del 15% del CCR con CIMP+ se relaciona con la metilación de islas CpG en el promotor del gen MLH1. Se ha observado también que la mitad de todos los CCR con CIMP+ presentan MSI-H debido a la inactivación del gen de reparación MLH1; en estos casos se concluye que existe una relación clara entre las vías de inestabilidad microsatelital y la de metilación (56).

De otro lado, en los últimos años se han propuesto estudios de metilación en CCR con múltiples genes candidatos, entre ellos p16, MGMT, RASSF2AA, APC, RUNX3, MIN e IGF2 (56). En estos trabajos se ha encontrado que la mayoría de los CCR CIMP+ también se correlacionan con mutaciones en el gen B-RAF, mientras que los casos sin mutaciones en este gen las presentan en el gen K-RAS; por lo tanto, se considera que las mutaciones en estos dos genes se excluyen mutuamente, lo que sugiere que estas dos vías moleculares son importantes para el desarrollo del CCR.

Por otra parte, se informa que los pacientes con CCR CIMP+, con un alto porcentaje de islas CpG metiladas en múltiples promotores de diferentes genes y que, además, tienen MSI-H presentan unas características clínico-patológicas muy relevantes asociadas con este tipo de cáncer, como son el origen del tumor en el colon proximal, el predominio en mujeres de mayor edad y el desarrollo de tumores mucinosos con una mala diferenciación histológica; sin embargo, se asocia con un buen pronóstico (7,8,56). Los anteriores hallazgos tienen una gran importancia para establecer en la población con CCR una buena correlación entre genotipo y fenotipo.

Finalmente, estudios recientes demuestran que las alteraciones epigenéticas se podrían revertir mediante el uso de fármacos como 5-azacitidina o curcumina, que inhiben las metilasas del ANA e histonas y remueven los grupos metilo de la 5 metil-citosina; por lo tanto, el tratamiento antineoplásico de diversos tumores con estas drogas constituye una excelente oportunidad para revertir el fenotipo tumoral (57). Además, la detección de la metilación en diferentes genes podría predecir la respuesta a terapias contra el CCR; un ejemplo es la metilación del gen MGMT, que predice la resistencia a ciertos

OJO VENÍAN REPETIDAS LAS REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. BORRÉ LAS ÚLTIMAS Y TRABAJE CON LAS QUE APARECEN DE PRIMERO EN EL ARCHIVO DE WORD. FAVOR REVISAR. GRACIAS

agentes quimioterapéuticos que atacan el O⁶ de la guanina; también, mutaciones en el gen de la histona-deacetilasa 2 que predice la resistencia a inhibidores de HDAC (por la sigla en inglés de *histone-deacetylases*); en ambos casos se considera que las alteraciones identificadas serían útiles para orientar al oncólogo en la selección de un tratamiento más efectivo.

En conclusión, en el CCR se presenta una gran heterogeneidad genética, puesto que puede desarrollarse por diferentes vías; entre las más a menudo descritas se encuentran la vía supresora, la mutadora y la de la metilación. La vía por la cual se produce el cáncer dependerá del gen alterado inicialmente; por ejemplo, si ocurre una alteración en un gen supresor de tumores o en un protooncógeno, como APC o K-RAS respectivamente, se desarrolla la vía supresora; si, por el contrario, la mutación se presenta en un gen de reparación como MLH1 o MSH2 se desencadena la vía mutadora, mientras que si se produce una inactivación en la expresión de genes por mecanismos epigenéticos, el cáncer se podría desarrollar por la vía de la metilación.

Una caracterización detallada de los mecanismos genéticos, epigenéticos y ambientales que predisponen al CCR, serviría para un mejor entendimiento de sus bases moleculares y sería de gran utilidad para la implementación de un mejor diagnóstico genético, que permita la detección temprana en familias que presentan un alto riesgo de desarrollar este tipo de cáncer. Asimismo, favorecería el desarrollo de nuevas drogas antineoplásicas con el objeto de lograr una terapia más eficiente que mejore la tasa de supervivencia de los pacientes con CCR.

AGRADECIMIENTOS

Este artículo fue financiado por la Universidad de Antioquia, programa de sostenibilidad 2009-2010. Genética Médica. CPT-0905.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. 2010. Available: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin*. 2011 Jul-Aug;61(4):212-36.
3. Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009 Jun;18(6):1688-94.
4. Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. Worldwide variations in colorectal cancer. *CA Cancer J Clin*. 2009 Nov-Dec;59(6):366-78.
5. Cali RPDd. Tasas de incidencia y mortalidad promedio anual Cali, Colombia: Universidad del Valle; [2005; citado 2011 Enero 31 de 2011]; Disponible en: <http://rpcc.univalle.edu.co/es/incidencias/Estadisticas/index.php>
6. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun 1;61(5):759-67.
7. Worthley DL, Leggett BA. Colorectal cancer: molecular features and clinical opportunities. *Clin Biochem Rev*. 2010 May;31(2):31-8.
8. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009 Dec 17;361(25):2449-60.
9. Wong HL, Peters U, Hayes RB, Huang WY, Schatzkin A, Bresalier RS, et al. Polymorphisms in the adenomatous polyposis coli (APC) gene and advanced colorectal adenoma risk. *Eur J Cancer*. 2010 May 24.
10. Gillian Smith FAC, Julie Beattie, Murray J. V. Wilkie, Tracy J. Lightfoot, Jonathan coxhead. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53—alternative genetic pathways to colorectal cancer. *PNAS*. 2002 Septiembre 6 de 2009;99(14):1433-8.
11. Akkiprik M, Ataizi-Celikel C, Dusunceli F, Sonmez O, Gulluoglu BM, Sav A, et al. Clinical significance of p53, K-ras and DCC gene alterations in the stage I-II colorectal cancers. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2007 Mar;16(1):11-7.
12. Worthley DL, Whitehall VL, Spring KJ, Leggett BA. Colorectal carcinogenesis: road maps to cancer. *World J Gastroenterol*. 2007 Jul 28;13(28):3784-91.
13. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW. Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology*. Jun;138(6):2044-58.

14. Pritchard CC, Grady WM. Colorectal cancer molecular biology moves into clinical practice. *Gut*. 2011 Jan;60(1):116-29.
15. Martin SA, Hewish M, Lord CJ, Ashworth A. Genomic instability and the selection of treatments for cancer. *J Pathol*. 2010 Jan;220(2):281-9.
16. Jang YH, Lim SB, Kim MJ, Chung HJ, Yoo HW, Byeon JS, et al. Three novel mutations of the APC gene in Korean patients with familial adenomatous polyposis. *Cancer Genet Cytogenet*. 2010 Jul 1;200(1):34-9.
17. Kim DW, Kim IJ, Kang HC, Park HW, Shin Y, Park JH, et al. Mutation spectrum of the APC gene in 83 Korean FAP families. *Hum Mutat*. 2005 Sep;26(3):281.
18. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*. 2009 Jul;17(1):9-26.
19. de la Chapelle A. Genetic predisposition to colorectal cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004 Oct;4(10):769-80.
20. Brocardo MG, Borowiec JA, Henderson BR. Adenomatous polyposis coli protein regulates the cellular response to DNA replication stress. *Int J Biochem Cell Biol*. 2011 May 30.
21. Conlin A, Smith G, Carey FA, Wolf CR, Steele RJ. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut*. 2005 Sep;54(9):1283-6.
22. Tejpar S, Van Cutsem E. Molecular and genetic defects in colorectal tumorigenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2002 Apr;16(2):171-85.
23. Kemp Z, Thirlwell C, Sieber O, Silver A, Tomlinson I. An update on the genetics of colorectal cancer. *Hum Mol Genet*. 2004 Oct 1;13 Spec No 2:R177-85.
24. Carta C, Pantaleoni F, Bocchinfuso G, Stella L, Vasta I, Sarkozy A, et al. Germline missense mutations affecting KRAS Isoform B are associated with a severe Noonan syndrome phenotype. *Am J Hum Genet*. 2006 Jul;79(1):129-35.
25. Chang DZ, Kumar V, Ma Y, Li K, Kopetz S. Individualized therapies in colorectal cancer: KRAS as a marker for response to EGFR-targeted therapy. *J Hematol Oncol*. 2009;2:18.
26. Jancik S, Drabek J, Radzioch D, Hajdich M. Clinical relevance of KRAS in human cancers. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:150960.
27. Nandan MO, Yang VW. Genetic and Chemical Models of Colorectal Cancer in Mice. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2010 Mar 10;6(2):51-9.
28. Wang HL, Lopategui J, Amin MB, Patterson SD. KRAS mutation testing in human cancers: The pathologist's role in the era of personalized medicine. *Adv Anat Pathol*. 2010 Jan;17(1):23-32.
29. Patil DT, Fraser CR, Plesec TP. KRAS testing and its importance in colorectal cancer. *Curr Oncol Rep*. 2010 May;12(3):160-7.
30. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al. Recurrent KRAS codon 146 mutations in human colorectal cancer. *Cancer Biol Ther*. 2006 Aug;5(8):928-32.
31. Friday BB, Adjei AA. K-ras as a target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Nov 25;1756(2):127-44.
32. Thomas P, Plesec aJLH. KRAS Mutation Testing in Colorectal Cancer. *Advances in Anatomic Pathology*. 2009;16(4):196-203.
33. Siddiqui AD, Piperdi B. KRAS mutation in colon cancer: a marker of resistance to EGFR-I therapy. *Ann Surg Oncol*. 2010 Apr;17(4):1168-76.
34. Sharma SG, Gulley ML. B-RAF mutation testing in colorectal cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2010 Aug;134(8):1225-8.
35. Rozek LS, Herron CM, Greenson JK, Moreno V, Capella G, Rennert G, et al. Smoking, gender, and ethnicity predict somatic B-RAF mutations in colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010 Mar;19(3):838-43.
36. Prenen H, Tejpar S, Van Cutsem E. Impact of molecular markers on treatment selection in advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2009 Sep;45 Suppl 1:70-8.
37. Ogino S, Noshio K, Kirkner GJ, Kawasaki T, Meyerhardt JA, Loda M, et al. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, B-RAF mutation and clinical outcome in colon cancer. *Gut*. 2009 Jan;58(1):90-6.
38. Horstmann MA, Posl M, Scholz RB, Anderegg B, Simon P, Baumgaertl K, et al. Frequent reduction or loss of DCC gene expression in human osteosarcoma. *Br J Cancer*. 1997;75(9):1309-17.
39. Wang W, Wang GQ, Sun XW, Chen G, Li YF, Zhang LY, et al. Prognostic values of chromosome 18q

microsatellite alterations in stage II colonic carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2010 Dec 21;16(47):6026-34.

40. Graziano F, Cascinu S, Staccioli MP, Catalano V, Rossi MC, Baldelli AM, et al. Potential role and chronology of abnormal expression of the Deleted in Colon Cancer (DCC) and the p53 proteins in the development of gastric cancer. *BMC Cancer.* 2001;1:9.
41. Font A, Abad A, Monzo M, Sanchez JJ, Guillot M, Manzano JL, et al. Prognostic value of K-ras mutations and allelic imbalance on chromosome 18q in patients with resected colorectal cancer. *Dis Colon Rectum.* 2001 Apr;44(4):549-57.
42. Tunca B, Pedroni M, Cecener G, Egeli U, Borsi E, Zorluoglu A, et al. Analysis of mismatch repair gene mutations in Turkish HNPCC patients. *Fam Cancer.* 2010 Apr 6.
43. Shi Y, Massague J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell.* 2003 Jun 13;113(6):685-700.
44. Mao G, Yuan F, Absher K, Jennings CD, Howard DS, Jordan CT, et al. Preferential loss of mismatch repair function in refractory and relapsed acute myeloid leukemia: potential contribution to AML progression. *Cell Res.* 2008 Feb;18(2):281-9.
45. Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet.* 2007 Apr;8(4):286-98.
46. Ramirez N, Bandres E, Navarro A, Pons A, Jansa S, Moreno I, et al. Epigenetic events in normal colonic mucosa surrounding colorectal cancer lesions. *Eur J Cancer.* 2008 Nov;44(17):2689-95.
47. Mogi A, Kuwano H. TP53 mutations in nonsmall cell lung cancer. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:583929.
48. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Jan;2(1):a001008.
49. Godai TI, Suda T, Sugano N, Tsuchida K, Shiozawa M, Sekiguchi H, et al. Identification of colorectal cancer patients with tumors carrying the TP53 mutation on the codon 72 proline allele that benefited most from 5-fluorouracil (5-FU) based postoperative chemotherapy. *BMC Cancer.* 2009;9:420.
50. Rossi FCCdSMDVfFdOFDMCBM. Mismatch repair genes in Lynch syndrome: a review. *Sao Paulo Medical Journal.* 2009;127(1):46-51.
51. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2010 Jun;138(6):2073-87 e5.
52. Caruso ML. Role of Mismatch Repair Proteins and Microsatellite Instability in Colon Carcinoma. *Handbook of Immunohistochemistry and in situ Hybridization of Human Carcinomas.* 2005;2:215-26
53. Hsieh P, Yamane K. DNA mismatch repair: molecular mechanism, cancer, and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2008 Jul-Aug;129(7-8):391-407.
54. Pouligiannis G, Frayling IM, Arends MJ. DNA mismatch repair deficiency in sporadic colorectal cancer and Lynch syndrome. *Histopathology.* 2010 Jan;56(2):167-79.
55. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med.* 2003 Nov 20;349(21):2042-54.
56. Kim MS, Lee J, Sidransky D. DNA methylation markers in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2010 Mar;29(1):181-206.
57. Mossman D, Kim KT, Scott RJ. Demethylation by 5-aza-2'-deoxycytidine in colorectal cancer cells targets genomic DNA whilst promoter CpG island methylation persists. *BMC Cancer.* 2010;10:366.

