

POINT OF VIEW

Molecular genetics of colorectal cancer

D. Cruz-Bustillo Clarens

National Institute of Gastroenterology. Havana, Cuba

ABSTRACT

Colorectal tumours constitute an excellent system to study carcinogenesis and the molecular events implicated in the development of cancer. Attending to the way it is transmitted, colorectal cancer may appear in one of three forms: sporadic, familial, and hereditary. The sporadic form is most common and has no familial or hereditary associated factor thus far, while familial and hereditary forms show the same inheritance pattern. Hereditary colorectal cancers develop by means of defined stages that go from lesions in the crypt of the colon through adenomas to manifest cancer. They are characterised by the accumulation of multiple mutations in tumour suppressor genes and oncogenes that affect the balance between cell proliferation and apoptosis. The colorectal carcinogenesis pathway is not unique and there are probably several ways for the initiation, development and progression of colorectal tumours.

Key words: Colorectal cancer. Colorectal carcinogenesis. Tumour suppressor genes. Caretakers and gatekeepers. Germinal mutation. Sporadic mutation. Microsatellite instability.

Cruz-Bustillo Clarens D. Molecular genetics of colorectal cancer. Rev Esp Enferm Dig 2004; 96: 48-59.

INTRODUCTION

In recent years extraordinary advances have been accomplished in colorectal carcinogenesis research.

Recibido: 21-02-03.
Aceptado: 22-07-03.

Correspondencia: Diana Cruz-Bustillo Clarens. Calle 25 #503 entre H e I, Vedado. 10400 La Habana, Cuba. Phone: (537) 832 5067. Fax: (537) 33 3253. e-mail: dcruzbu@infomed.sld.cu

Colorectal tumours constitute an excellent system to study both carcinogenesis and the molecular events involved in the development of cancer. Due to the increasing clinical and histopathological information in relation to malignant colorectal tumours, it is currently a fact that the majority of, if not all, colorectal cancers (CRC) come from previous benign tumours, namely adenomas. Another advantage of the study of carcinogenesis using CRC as a model is that it is possible to obtain study materials from a range of very small adenomas to fully developed tumours with metastasis. On the other hand, both hereditary and environmental factors contribute to the development of CRC, all of which enable the investigation of somatic and hereditary genetic alterations.

CLASSIFICATION OF COLORECTAL CANCERS

Attending to the way it is transmitted, there are three major forms of colorectal cancer:

1. Sporadic.
2. Familial.
3. Hereditary.

The proportion of each one in the population varies (Fig. 1). Hereditary forms and hamartomatous syndromes are least common (1). Ten percent to 30% of cases correspond to familial risk, and the rest to sporadic colorectal cancer.

The term sporadic is usually used to differentiate cancers occurring in individuals who do not carry a mutation conferring tumour susceptibility from cancers occurring in individuals who carry a known mutation associated with this disease. This difference is not absolute because the genetic factor seems to influence the probability of cancer onset even in the presence of a specific mutation. The term sporadic is also used to describe cancer in individuals lacking a family history of cancer (2). The vast majority of cancers are considered sporadic.

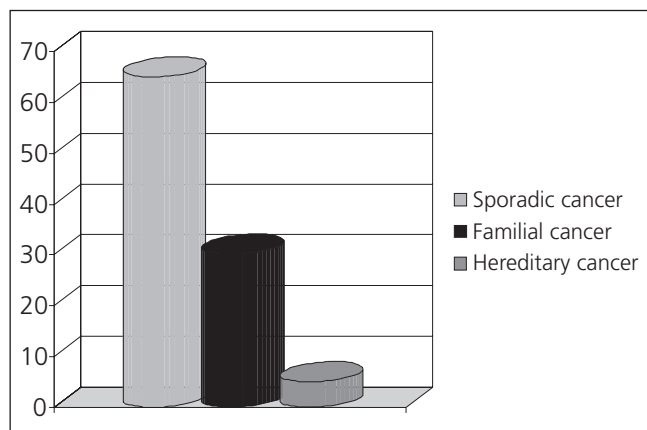


Fig. 1.- Colorectal cancers in humans (Data taken from reference 1)
Formas de cáncer colorrectal en humanos (datos modificados de cita 1).

So far, no gene associated to familial cancers has been identified. However, population studies show a two to three-fold greater risk of CRC versus the normal population when first degree relatives have 'sporadic cancer in the colon'. Results of multiple family studies indicate that family risk is the probable outcome of an inherited susceptibility with partial penetrance to develop adenomas and colon cancer (3).

Inherited factors may determine the susceptibility of an individual to develop adenomas and colon cancer, while environmental factors most probably determine which of the genetically predisposed individuals will develop small adenomas, big adenomas, and finally colorectal cancer (4).

The most common hereditary forms of CRC are familial adenomatous polyposis (FAP) and hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC), although there are other syndromes associated with predisposition.

HEREDITARY SYNDROMES PREDISPOSING TO COLORECTAL CANCER

In 1998, Lynch and Lynch published a most complete classification of hereditary disorders predisposing to CRC (5).

These authors not only classified the different cancer syndromes, but also described their pattern of inheritance and associated germinal mutations; polyp information; other associated cancers; non-cancerous characteristics of the syndrome; population screening; surgical and/or prophylactic procedures; DNA testing in pre-symptomatic individuals, and genetic counselling.

According to these authors the individual syndromes predisposing to CRC are:

- Familial adenomatous polyposis (FAP).
- Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP).
- I1307K mutation in Ashkenazi Jews.
- Juvenile polyposis coli.
- Peutz-Jeghers syndrome.

—Slight adenomatous polyposis of the colon and Burt's colorectal cancer.

—Hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC).

—Familial colorectal cancer

—Familial ulcerative colitis and Crohn's disease.

With the exception of the latter two, the rest are transmitted in a dominant autosomal way.

FAP has a very characteristic clinical phenotype, represented by profuse polyposis. It has been described (6) as an autosomal dominant disorder typically presented with colorectal cancer at early ages, secondary to extense adenomatous polyposis of the colon. Polyps may also appear in the upper gastrointestinal tract, and tumours may occur in other locations, including the brain and thyroid. Other clinical characteristics include: retinal lesions named congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium (CHRPE), jaw cysts, sebaceous cysts, and osteomas. FAP manifests in patients who inherit germinal mutations in the APC gene, which is localized in 5q21.

There are several classifications of FAP, one of them by number of polyps (7). The disease is classified as mild when there are fewer than a thousand polyps in the intestine, while it will be severe if this amount is exceeded.

Gardner's syndrome is a phenotypic variant of FAP that also includes extracolonic features such as epidermoid cysts, jaw osteomas, CHRPE, fibromas, and desmoid tumours (8-10).

The average onset age for FAP is 39 years although the disease is sometimes expressed during puberty and around 20 years of life. Other extracolonic cancers associated with FAP are: stomach, small intestine, and periampullar carcinoma and sarcoma (5).

AFAP differs in that adenomas may be flat and predominate in the proximal colon; their major characteristic is that they are scarce (5 to 10), but sometimes over 100. Cancer develops at older ages (50 years average), and polyps in the fundic glands of the stomach and adenomas of the duodenum may be associated. (5).

Turcot's syndrome is characterized by profuse adenomas in the colon (from 50 to over 100) and by the development of cancers in the central nervous system (CNS), specifically the brain. There are two variants depending on the mutated gene. The first variant presents germinal mutations in the APC gene, and in this disease medulloblastomas predominate; the second one develops mutations in the hMLH1 and hPMS2 genes, and multiform glioblastoma predominates (5).

Juvenile polyposis is characterized by the difuse presence of 10 or more juvenile hamartomatous polyps in the colon, which may develop also in the stomach and small intestine. It is molecularly identified by mutations in the gene coding for tyrosine-phosphate protein (PTEN) (1,5).

Peutz-Jeghers syndrome is characterized by the presence of hamartomatous polyps in the stomach, small intestine, and colon. It also develops muco-cutaneous pigmentation of melanin usually in the perioral region, and

is accompanied by mutations in the gene coding for serine-threonine kinase (STK11) on chromosome 19p13.3 (1).

HNPCC presents adenomas only occasionally, never profusely. Its diagnosis requires the exclusion of FAP. Adenomas are generally bigger and more villous; their frequency of appearance is the same as in the normal population. It is characterized by the development of CRC at early ages, predominant in the right colon, with an excess of synchronic and metachronous tumours. Other cancers associated with HNPCC are: endometrium, ovary, small intestine, stomach, ureter and renal pelvis. The average age at onset is 44 years, and a rapid progression adenoma-carcinoma is observed. The Muir-Torre syndrome is a rare variant presenting CRC, sebaceous adenomas, epitheliomas, and other skin lesions (5).

In 1991, the Amsterdam Criteria were established (11) to confirm the clinical diagnosis of HNPCC families. Since these criteria are rather restricted, several modifications have been proposed and currently the Bethesda Criteria, established in 1997 (12) (Tables I and II) and the Amsterdam Criteria II, which extend the tumour spectrum including cancers in endometrium, small intestine, renal pelvis and ureter, are also available (13).

HNPCC is molecularly characterized by germinal mutations in the genes of the DNA mismatch repair system, mainly hMLH1 and hMSH2, and also because the colorectal tumours show microsatellite instability (5).

Table I. Amsterdam criteria (1991) (12)

1. At least three members of the family with colorectal cancer
2. At least one is first consanguinity of the other two
3. FAP is excluded
4. At least two successive generations affected
5. Colon cancer at < 50 years of age

Table II. Bethesda guidelines (1997) to test microsatellite instability in colorectal tumours (12)

1. Amsterdam criteria individuals
2. Individuals with two HNPCC-related cancers, including synchronous and metachronous colorectal cancers^a
3. Individuals with colorectal cancer and a first-degree relative with one or more of the following:
 - a) Colorectal cancer diagnosed under 45 years
 - b) HNPCC-related cancer diagnosed under 45 years
 - c) Adenoma diagnosed under 40 years
4. Individuals under 45 years of age with colorectal or endometrial cancer
5. Individuals with proximal cancer of undifferentiated type^b
6. Individuals under 45 years of age with signet-ring cancer^c
7. Individuals under 40 years of age with adenomas

^aEndometrial, ovarian, gastric, hepatobiliary, small bowel, or transitional cell carcinoma of the renal pelvis or ureter. ^bSolid /cribiform pattern defined as a poorly differentiated or undifferentiated carcinoma composed of irregular, solid plaques of big eosinophilic cells containing small glandular-like spaces; ^c>50% signet-ring-cells.

THE ADENOMA-CARCINOMA SEQUENCE

The cells of the normal intestine mucosa have a polyclonal origin and they develop from a variety of stem cells, while CRC cells are monoclonal (14).

CRC develops through definite stages that go from lesions in the colonic crypts through adenomas to cancer. This adenoma-carcinoma sequence is characterized by the accumulation of multiple mutations in tumour suppressor genes and oncogenes that affect the balance between cell proliferation and apoptosis. A modern explanation for tumour genesis is based on the concept that each of these mutational events confers a growth advantage to each tumour cell (14,15). And every following event confers the cell additional growth advantages compared to the rest of tumour cells, resulting in multiple staged clonal expansion and, eventually, tumour progression (14,16).

Mutational events include small deletions, insertions or substitutions of only one nucleotide, but major genetic changes may occur, like gene amplification or complete chromosome loss. These alterations may affect two different classes of genes: proto-oncogenes and tumour suppressor genes. The majority of hereditary forms of CRC present alterations in tumour suppressor genes (14).

A more updated classification (17) subdivides tumour suppressor genes into two classes: gatekeepers and caretakers. Gatekeepers directly inhibit tumour growth and promote apoptosis, while inactive caretakers do not affect directly tumour growth, but they result in genomic instability thus contributing to the general increase of mutation rate and acceleration of cancer development.

THE APC GENE

The adenomatous polyposis coli (APC) gene is the authentic gatekeeper of cell proliferation in the colon epithelium.

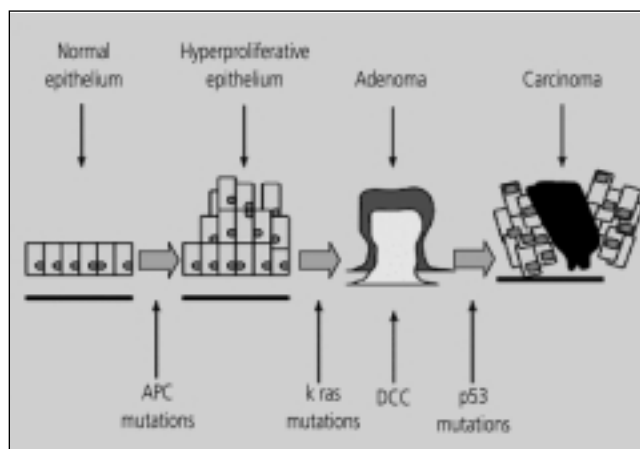


Fig. 2.- Adenoma-carcinoma sequence (taken from Hardy et al) (51)
Secuencia adenoma-carcinoma (tomada de Hardy et al) (51).

The APC gene was identified and characterized in 1991 (18, 19). It is located in chromosome 5q21 and is made up of 8535 bp distributed into 15 exons, although in 1996 Thliveris (20) described it as a gene divided into 21 exons. A recent description includes a 10A exon. This gene codes for a large protein of 2843 aminoacids in its more common isoform (21). Exon 15 occupies >75% of the coding sequence of APC, and is the most common mutational region, both for germinal and somatic mutations (22).

The APC protein forms homo-oligomers, associates itself with catenins, and expresses itself in various types of tissue. It is made up of an oligomerization domain and an armadillo region in the amino-terminal end, 15 or 20 aminoacid repetitions in its central portion, and a carboxi-terminal end containing a basic domain and union sites for other proteins. The multiple domains of APC allow interaction with other proteins. Each domain has a specific function regarding the protein's activity (23).

The oligomerization domain allows the protein to form homodimers, the protein's active form (24), while the armadillo region seems to allow the protein to play a role in the stabilization and motility of the cytoskeleton, even though it must not be essential for APC's role as a tumour suppressor gene (23). The 15-aminoacid repetitions confer the protein union sites for β -catenin, and the 20-aminoacid repetitions are the union site for this protein. This site has been found essential for the binding of β -catenin (25).

The more frequent mutations in the APC gene produce inactive truncated proteins. The basic domain permits APC to bind to microtubules (23)

The APC protein has various functions (4):

1. Regulation of β -catenin-induced signalling.
2. Regulation of cell adhesion via β -catenin and E-cadherin.
3. Regulation of cell migration via interaction with microtubules.
4. Cell cycle block perhaps by direct inhibition of cell cycle components.
5. Coordinated regulation of cell adhesion and motility (26).

Wnt SIGNALLING PATHWAY AND CELL PROLIFERATION

The development of embryonic tissues and organs is controlled by several signalling pathways that interact with each other to offer information and to induce the specification of cellular fate. One of the main signalling systems is the Wnt pathway (25). Wnt ("wingless") proteins direct the differentiation of various types of cells in insect and vertebrate embryos.

These proteins constitute a family of highly preserved signalling molecules that regulate intercellular interactions during embryogenesis. Wnt genes have also been proved to be involved in cancer (28).

It has been demonstrated that Wnt signalling is essential to maintain the stem-cell compartment within intestinal crypts (29). Stem cells are multipotent cells found in many tissues, and they can meet a variety of fates. When they are exposed to selected growth factors and cytokines, they generate progenitor cells which transiently proliferate and then leave the cell cycle to ultimately differentiate (30).

Wnt signalling proteins participate in various tissues, as the skin, adipose tissue, haematopoietic tissue, and others (25).

THE ROLE OF APC AND β -CATENIN IN THE Wnt SIGNALLING PATHWAY

The APC protein plays a substantial role in the regulation of the Wnt signalling pathway. Usually, APC will form a complex with β -catenin, axin, glycogen synthase kinase 3 β (GSK 3 β) and other proteins. Axin contains binding domains for the essential components involved in β -catenin degradation, and GSK 3 β phosphorylates β -catenin in its serine and threonine residues (31).

The marking of β -catenin is sufficient for its immediate ubiquitin-dependent proteolysis (32). When the complex is not formed, either due to a Wnt signal, the inactivation of APC, or a mutation of β -catenin, the latter is neither phosphorylated nor degraded, but it is accumulated in the cytoplasm and nucleus (33,34). There, it associates with members of the T cellular factor (TCF) and the gene transcription activator family implicated in cell proliferation, for example, oncogenes c-myc and D1 cyclin. Both proteins regulate the cell cycle (35-38).

ROLE OF APC IN INTERCELLULAR ADHESION

The fact that APC binds to β -catenin implies that APC also plays a role in epithelial cellular adhesion (39). Catenins associate with cadherins, which are involved in intercellular adhesion (39). This binding is a critical structure of the adherens zone complex that participates in adhesion and in intercellular communication. E-cadherin serves also as an anchorage area to the actin cytoskeleton (16). E-cadherin is responsible for cell-cell adhesion in epithelial cells and thus, it is essential that catenin binds one of its cytoplasmic domains (40). This domain has an identical motif to β -catenin's in APC. E-cadherin and β -catenin interaction is regulated by the phosphorylation of the latter, and this phosphorylation only takes place when a complex with the homodimer of APC protein has previously been formed (23). On the other hand, APC contributes to the ordered migration of intestinal cells inside the crypt, and β -catenin plays a crucial role in this function (41).

EVENTS IN THE COLONIC CRYPT

The microarchitecture of the colon is characterised by crypts that are approximately 50 cells deep. In the small bowel, crypts and villi provide a very large surface area for nutrient absorption. In the large bowel this great area is not necessary because absorption is mainly restricted to water (4).

In the normal colon epithelium, there is an almost constant and normal renewal of the superficial epithelium, approximately every six days, through cell proliferation and differentiation in the crypt. Colonocyte proliferation takes place in the lower portion of the crypt and is characterized by mitosis and because colon cells migrate to the upper part of the crypt moving away from stem cells. Differentiation and maturation of newly born cells take place while these migrate along the crypt (4). Mature cells lose their capacity to divide again, and finally die by apoptosis and exfoliate to the lumen.

In the adenoma, this sequence is altered. Continued mitosis takes place and cells do not differentiate, so the compartment where they proliferate may take up the whole crypt. An adenoma is a benign neoplasm, and even though it is generally accepted that colon cancers rise from colon adenomas, it is a well known fact that the majority of adenomas do not develop into carcinomas. The exact frequency of this progression from an adenoma to cancer is unknown yet (16).

MOLECULAR MODEL OF COLORECTAL CARCINOGENESIS

Survivin is a member of the antiapoptotic family of proteins (42) which appears to be overexpressed in cancers but not in the corresponding normal adult tissues (43). Apoptosis is the normal mode of programmed cell death. On the other hand, it has been suggested that survivin could participate in cell division regulation (44), specifically in mitosis, and that it might play a dominant role in microtubule function (45).

Let us take a look at the molecular events taking place in the colonic crypt and hypothesize how colorectal carcinogenesis takes place.

Survivin expresses itself preferentially in the lower part of the normal colonic crypt, where stem cells responsible for cellular proliferation reside. Thus, in the base of the crypt the proliferation of stem cells which migrate up the crypt wall while they differentiate and mature takes place, until they reach the apex of the crypt. Therefore, the function of survivin in the base of the crypt is to inhibit apoptosis so that all the necessary cells, substituting those that will be eliminated in the apex and ultimately exfoliate to the lumen, may regenerate. On the contrary, survivin will be responsible for conferring stem cells a prolonged survival in this proliferative region. In the base of the crypt no activity of the tumour suppressor protein

APC has been found. In the intermediate portion of the colonic crypt, the activity of survivin is diminished, a fact which correlates with colonocytes not proliferating and starting to differentiate and mature. On the other hand, the greatest activity of APC in this region has been associated with the suppression of survivin, suggesting a possible inhibition of survivin by APC. In the upper portion of the crypt, great activity of the protein APC has been found, while the levels of survivin are low or non-existent.

This region already includes the mature colonocytes that later will suffer terminal apoptosis and be extruded (46).

How could colon carcinogenesis be initiated? A very sensible hypothesis is through inactivation of APC due to a mutation. It has been shown that an APC mutation is the initiating molecular event in colorectal tumorigenesis. When APC, whose function in the colonocyte is to control cell proliferation through its association with β -catenin, is inactivated, there will be neither differentiation nor maturation of colonocytes, and stem cells proliferating at the base of the crypt will migrate towards the apex without maturation. But on the other hand, mutant APC will not be able to inhibit survivin, thus allowing its constitutive expression, and thereby inhibiting apoptosis and causing an abnormal accumulation of cells at the apex of crypts, which will give rise to adenomas and ultimately tumours. These cells tend to maintain their natural non-differentiated, stem-cell phenotype while they migrate towards the apex of the crypt and continue proliferating (46). This is the hypothesis that explains carcinogenesis via the "gatekeeper" that is APC.

THE CARETAKERS WAY

There is another possible colorectal carcinogenesis pathway: through "caretaker" genes. Although this possibility is not as well documented as the previous one, it is another way colorectal carcinogenesis is made possible, giving rise not only to sporadic cancers but also to familial and hereditary forms. There are, at least, six DNA mismatch repair genes, and their implication in the hereditary syndrome HNPCC is well known (47).

Cells must preserve their genome integrity in order to avoid the inheritance of deleterious mutations by daughter cells and the accumulation of mutations in genes that control cell proliferation. If this defence is breached, the result is the growth of malignant tumours (48). Cells employ various DNA repair systems to safeguard the integrity of their genome.

The MMR system eliminates errors in mismatches between bases, and also insertion-deletion loops resulting from the DNA polymerase slipping during replication. The first lesions affect non-repetitive DNA and result in base substitutions (i.e. G→T), while the loops affect repetitive DNA and result in short repetitive units (CA) ad-

ded or subtracted in microsatellites. This is known as microsatellite instability (MSI) (48). MSI is found both in sporadic and hereditary (HNPCC) colorectal tumours, but it is a distinctive characteristic of HNPCC colorectal tumours. The majority of tumours presenting MSI owe this characteristic to the inactivation of one of the MMR genes: the hMLH1 gene. This inactivation is mainly due to hypermethylation and not to somatic mutations or loss of heterozygosity (49). Nevertheless, germinal mutations associated with HNPCC are mainly mutations in the hMLH1 and hMSH2 repair genes, and their products are critical for MSI to develop (48).

The candidate model of carcinogenesis via caretakers is based on a 100-1000 times increase of the mutation rate compared to normal cells. Besides microsatellites, mutations hit genes that control cell proliferation, specifically those containing repetitive sequences as mutation targets (50). In HNPCC, besides the inherited mutation in the MMR genes, a somatic mutation is required to inactivate both gene copies. Due to the error in the MMR system, errors that normally occur during DNA replication remain uncorrected, and thus mutations accumulate and different regions of the genome become affected, damaging in turn both alleles of tumour suppressor genes, which results in the development of a tumour. The prolonged initiation of this tumour is followed by a fast progression, due to mutation rate acceleration (13,14,16,17).

The probability that an individual with a defective DNA mismatch repair system will develop an adenoma could be not greater than that of the general population, but once an adenoma develops, its progression to cancer is faster in the individual with defective repair genes since the colon environment will induce irreparable damage (4,51).

CONCLUSION

We have seen that colorectal carcinogenesis may start by the inactivation of tumour suppressor genes, whether gatekeepers or caretakers; that this inactivation may result from mutation or from hypermethylation of these genes; that there are other genes that may be hit by activating or inactivating mutations, as oncogenes and genes participating in cell proliferation control and apoptosis; that in all tumours there is accumulation of multiple mutations in the previously mentioned genes, and that all colorectal cancers do not exhibit the same mutations, neither qualitatively nor quantitatively.

Obviously, the colorectal carcinogenesis pathway is not unique, and probably there are various ways for the initiation, development, and progression of colorectal cancer. Not all has been elucidated at present, but every step taken towards the development of colorectal carcinogenesis research will be a step towards an understanding of its mechanisms and a way to prevent this devastating illness.

REFERENCES

1. Burt RW. Colon Cancer Screening. *Gastroenterology* 2000; 119: 837-53.
2. National Cancer Institute. Cancer genetics Overview. Available at: <http://www.cancer.gov/cancerinfo/pdq/genetics/overview.html> Date last modified: 06/2002.
3. Burt RW, DiSario JA, Cannon-Albright LA. Genetics of colon cancer: Impact of inheritance on colon cancer risk. *Annu Rev Med* 1995; 46: 371-9.
4. Potter, JD. Colorectal cancer: Molecules and population. *J Nat Cancer Inst* 1999; 91: 916-32.
5. Lynch HT, Lynch JF. Genetics of colorectal cancer. *Digestion* 1998; 59: 481-92.
6. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). John Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 175100: January 29, 2003: World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
7. Wu JS, Paul P, Mc Gannon EA, Church JM. APC genotype, polyp number and surgical options in familial adenomatous polyposis. *Ann Surg* 1998; 227: 57-62.
8. Burt RW, Jacoby RF. Polyposis syndromes. In: Yamalda T, ed. Text book of gastroenterology. 3rd. ed. Philadelphia: Lippincott Raven, 1999. p. 1995-2022.
9. Guillem JG, Smith AJ, Culle J, Ruo L. Gastrointestinal polyposis syndromes. *Curr Prob Surg* 1999; 36: 219-323.
10. King JE, Dozois RR, Lindor NM, Alquist DA. Care of patients and their families with familial adenomatous polyposis. *May Clin Proc* 2000; 75: 57-67.
11. Vasen RFA, Mecklin JP, Meera-Khan P, Lynch HT. International Collaborative Group on hereditary nonpolyposis colorectal cancer diagnosed by mutation analysis. *Dis Colon Rectum* 1991; 34: 424.
12. Rodríguez-Bigas MA, Boland CR, Hamilton SR, Henson DE, Jass JR, Khan PM, et al. A National Cancer Institute workshop on hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: meeting highlights and Bethesda guidelines. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1758-62.
13. N Katballe, M Christensen, F P Wikman, T F Ørntoft, S Laurberg. Frequency of hereditary non-polyposis colorectal cancer in Danish colorectal cancer patients. *Gut* 2002; 50: 43-51.
14. Hahn M, Saeger HD, Schackert HK. Hereditary colorectal cancer: clinical consequences of predictive molecular testing. *Int J Colorectal Dis* 1999; 14: 184-93.
15. Mecklin JP, Peltomaki P. Genetic changes associated with colon tumor development. *Ann Chir Gynaecol* 2000; 89: 211-5.
16. Carethers JM. The cellular and molecular pathogenesis of colorectal cancer. *Gastroent Clinics North Am* 1996; 25: 737-54.
17. Kinzler KW, Vogelstein B. Cancer susceptibility genes. Gatekeepers and Caretakers. *Nature* 1997; 386: 761-3.
18. Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli. *Cell* 1991; 66: 589-600.
19. Nishisho I, Nakamura Y, Miyoshi Y, Miki Y, Ando H, Horii A, et al. Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients. *Science* 1991; 253: 665-9.
20. Thliveris A, Albertsen H, Tuohy T, Carlson M, Groden J, Joslyn G, et al. Long-range physical map and deletion characterization of the 1100-kb Not I restriction fragment harboring the APC gene. *Genomics* 1996; 34: 268-70.
21. Horii A, Nakatsuru S, Ichii S, Nagase H, Nakamura Y. Multiple forms of the APC gene transcripts and their tissue-specific expression. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 283-7.
22. Beroud C, Soussi T. APC gene: database of germline and somatic mutations in human tumors and cell lines. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 121-4.
23. Fearhead NS, Britton MP, Bodmer WF. The ABC of APC. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 721-33.
24. Su LK, Jonson KA, Smith KJ, Hill DE, Vogelstein B, Kinzler KW. Association between wild-type and mutant APC gene products. *Cancer Res* 1993; 53: 2728-31.
25. Huelsken J, Birchmeier W. New aspects of Wnt signaling pathways in higher vertebrates. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 547-53.
26. Fodde R. The multiple functions of tumour suppressors: it's all in APC. *Nat Cell Biol* 2003.

27. McEwen DG. Wnt signaling: The naked truth? *Curr Biol* 2001; 11: R524-R526.
28. van Es JH, Giles RH, Clevers HC. The many faces of the tumor suppressor gene APC. *Exp Cell Res* 2001; 264: 126-34.
29. Korinek V, Barker N, Moerer P, van Donselaar E, Huls G, Peters PJ, et al. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nat Genet* 1998; 19: 379-83.
30. Fuchs E, Segre JA. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 2000; 100: 143-55.
31. Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 199-221.
32. Orford K, Crockett C, Jensen JP, Weissman AM, Byers SW. Serine phosphorylation-regulated ubiquitination and degradation of beta-catenin. *J Biol Chem* 1997; 272: 24735-8.
33. Polakis P. The oncogenic activation of beta-catenin. *Curr Opin Genet Dev* 1999; 9: 15-21.
34. Kobayashi M, Honma T, Matsuda Y, Suzuki Y, Narisawa R, Ajioka Y, et al. Nuclear translocation of beta-catenin in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 82: 1689-93.
35. Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Munemitsu S, Polakis P. Loss of beta-catenin regulation by the APC tumor suppressor protein correlates with loss of structure due to common somatic mutations of the gene. *Cancer Res* 1997; 57: 4624-30.
36. Roose J, Clevers H. TCF transcription factors: molecular switches in carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1424: M23-M37.
37. He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998; 281: 1509-12.
38. Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 1999; 398: 422-6.
39. Gumbiner BM. Signal transduction of beta-catenin. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 634-40.
40. Kintner C. Regulation of embryonic cell adhesion by the cadherin cytoplasmic domain. *Cell* 1992; 69: 225-36.
41. Mahmoud NN, Boolbol SK, Bilinski RT, Martucci C, Chadburn A, Bertagnolli MM. Apc gene mutation is associated with a dominant-negative effect upon intestinal cell migration. *Cancer Res* 1997; 57: 5045-50.
42. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; 3: 917-21.
43. Bao R, Connolly DC, Murphy M, Green J, Weinstein JK, Pisarcik DA, et al. Activation of cancer-specific gene expression by the Survivin promoter. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 522-8.
44. Altieri DC, Marchisio PC, Marchisio C. Survivin apoptosis: an interloper between cell death and cell proliferation in cancer. *Lab Invest* 1999; 79: 1327-33.
45. Altieri D. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 2001; 7 (12): 542-7.
46. Zhang T, Otevrel T, Gao Z, Gao Zh, Ehrlich SM, Fields JZ, et al. Evidence that TPC regulates Survivin expression: A possible mechanism contributing to the stem cell origin of colon cancer. *Cancer Res* 2001; 62: 8664-7.
47. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 120435. November 16, 2000: World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
48. Levitt NC, Hickson ID. Caretaker tumour suppressor genes that defend genome integrity. *Trends in Molecular Medicine* 2002; 8: 179-86.
49. Kuismanen SA, Holmberg MT, Salovaara R, de la Chapelle A, Peltomaki P. Genetic and epigenetic modification of MLH1 accounts for a major share of microsatellite-unstable colorectal cancers. *Am J Pathol* 2000; 156: 1773-9.
50. Bhattacharyya NP, Skandalis A, Ganesh A, Groden J, Meuth M. Mutator phenotypes in human colorectal carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6319-23.
51. Hardy RG, Meltzer SJ, Jankowski JA. ABC of colorectal cancer. Molecular basis for risk factors. *BMJ* 2000; 321: 886-9.

Genética molecular del cáncer colorrectal

D. Cruz-Bustillo Clarens

Instituto Nacional de Gastroenterología. La Habana, Cuba

RESUMEN

Los tumores colorrectales constituyen un excelente sistema para estudiar la carcinogénesis y los eventos moleculares involucrados en el desarrollo de un tumor. El cáncer colorrectal puede presentarse en tres formas, según su forma de transmisión: esporádico, familiar y hereditario. La forma esporádica que es la mayoritaria, no tiene hasta el momento ningún factor familiar o hereditario asociado, mientras que las formas familiares y hereditarias siguen un patrón de herencia en la propensión familiar a padecerlo. Los cánceres colorrectales hereditarios se desarrollan mediante etapas definidas que van desde

lesiones en la cripta del colon a través de adenomas hasta manifestar el cáncer y se caracterizan por la acumulación de múltiples mutaciones en genes supresores de tumor y oncogenes que afectan el balance entre la proliferación celular y la apoptosis. La vía de carcinogénesis colorrectal no es una sola y probablemente existan varios caminos para el inicio, desarrollo y progresión de un tumor colorrectal.

Palabras clave: Cáncer colorrectal. Carcinogénesis colorrectal. Genes supresores de tumor. Genes porteros y genes guardianes. Mutación germinal. Mutación esporádica. Inestabilidad en microsatélites.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han hecho avances extraordinarios en la investigación de la carcinogénesis colorrectal.

Los tumores colorrectales constituyen un excelente sistema para estudiar la carcinogénesis así como los eventos moleculares involucrados en el desarrollo de un tumor. Gracias a la gran cantidad de información clínica e histopatológica referente a los tumores colorrectales malignos, hoy se sabe que la mayoría, si no todos los cánceres colorrectales (CCR) provienen de tumores benignos previos que son los adenomas. Otra ventaja del estudio de la carcinogénesis a partir de los CCR, es que es posible obtener desde adenomas muy pequeños hasta cánceres desarrollados y con metástasis para el estudio. Por otra parte, tanto el factor hereditario como el ambiental contribuyen al desarrollo del CCR, lo que permite el estudio de las alteraciones genéticas tanto somáticas como heredadas.

CLASIFICACIÓN DE LOS CÁNCERES COLORRECTALES

Atendiendo a su forma de transmisión, se conocen tres formas fundamentales de cáncer colorrectal:

1. Esporádica.
2. Familiar.
3. Hereditaria.

La proporción de cada uno de ellos en la población varía (Fig. 1). Se ha expresado (1) que la forma hereditaria es la menos común (2 a 3% de incidencia de cáncer colorrectal hereditario no polipoideo o HNPCC y menos de 0.1% de poliposis múltiple o FAP). Los síndromes de poliposis hamartomatosa también ocupan menos del 0,1%. Hay un porcentaje de 10 a 30% de casos con riesgo familiar y el resto está representado por el cáncer colorrectal esporádico.

El término esporádico se utiliza a veces para diferenciar los cánceres que ocurren en personas que no portan una mutación que les confiera susceptibilidad al tumor, de los cánceres que ocurren en personas que portan una mutación conocida y asociada a la enfermedad. Esta diferencia no es absoluta ya que el factor genético parece influir en la probabilidad de aparición del cáncer aún en ausencia de una mutación específica. El término esporádico también se utiliza a veces para describir el cáncer que tiene lugar en individuos que no tienen historia familiar de cánceres (2). La vasta mayoría de los CCR se consideran esporádicos.

Hasta el momento no se ha identificado ningún gen asociado a los cánceres familiares. Sin embargo, los estudios poblacionales arrojan un riesgo dos a tres veces mayor que la población normal de adquirir un CCR cuando los familiares de primera consanguinidad han padecido un 'cáncer esporádico de colon'. Se han estudiado múltiples familias que indican que este riesgo familiar es el resultado proba-

ble de una susceptibilidad hereditaria con penetración parcial a padecer adenomas y cáncer de colon (3).

Los factores hereditarios pueden determinar la susceptibilidad del individuo a padecer de adenomas y cáncer de colon, mientras que los factores ambientales probablemente determinan quiénes de los individuos predispuestos genéticamente desarrollarán adenomas pequeños, adenomas grandes y finalmente, cáncer colorrectal (4).

Las formas hereditarias de CCR más conocidas son FAP y HNPCC aunque existen otros síndromes asociados a la predisposición a padecerlo.

SÍNDROMES HEREDITARIOS QUE PREDISPONEN AL CCR

La clasificación más completa que se ha realizado de los desórdenes hereditarios que predisponen al CCR la publicaron Lynch y Lynch en 1998 (5).

Estos autores no sólo clasifican los diferentes síndromes cancerosos, sino también exponen su patrón de herencia y mutación germinal conocida; información sobre pólipos en el síndrome; otros cánceres asociados; características no cancerosas del síndrome; indagación respecto a su presencia en la población; manejo quirúrgico y/o profilaxis; pruebas de ADN a individuos presintomáticos y asesoramiento genético.

Según estos autores existen los siguientes síndromes individuales que predisponen al CCR:

- Poliposis adenomatosa familiar (FAP).
- Poliposis adenomatosa familiar atenuada (AFAP).
- Mutación I1307K en judíos Ashkenazi.
- Poliposis coli* juvenil.
- Síndrome de Peutz-Jeghers.
- Poliposis adenomatosa ligera del colon y CCR de Burt.
- Cáncer colorrectal hereditario no polipoideo (HNPCC).
- Cáncer colorrectal familiar.
- Colitis ulcerosa familiar y enfermedad de Crohn.

Con excepción de las dos últimas, el resto se transmite de forma autosómica dominante.

La FAP tiene un fenotipo clínico muy característico representado por poliposis profusa. Se describe (6) como un desorden autosómico dominante que se presenta típicamente con cáncer colorrectal a edades precoces de manera secundaria a la poliposis adenomatosa extensa en el colon. También pueden aparecer pólipos en el tracto gastrointestinal superior y pueden ocurrir tumores en otros sitios incluyendo el cerebro y la tiroides. Otras características clínicas son: lesiones pigmentarias en la retina conocidas como hipertrofia congénita del pigmento de la retina (CHRPE), quistes en la mandíbula, quistes sebáceos y osteomas. La FAP se manifiesta en pacientes que heredan mutaciones germinales en el gen APC localizado en 5q21.

Se han realizado diversas clasificaciones de la FAP,

entre ellas por el número de pólipos (7). La enfermedad se clasifica como ligera si se encuentran menos de mil pólipos en el intestino, mientras que será severa si sobrepasa esta cifra.

El síndrome de Gardner es una variante fenotípica de la FAP que transita con quistes epidermoides en la piel, osteomas mandibulares, CHRPE, fibromas y tumores desmoides (8-10).

En FAP la edad promedio de debut es de 39 años, aunque la enfermedad se expresa a menudo en la pubertad y alrededor de los 20 años de vida. Otros cánceres asociados a la enfermedad son los de estómago, intestino delgado, carcinoma periampular y sarcoma (5).

La forma atenuada de FAP (AFAP) se diferencia en que los adenomas pueden ser planos y predominan en el colon proximal y lo más característico es que son pocos (5 a 10), a veces más de 100. El cáncer aparece a edades más avanzadas (50 años de edad promedio) y se pueden encontrar asociados pólipos de la glándula fúndica en el estómago y adenomas en el duodeno (5).

El síndrome de Turcot se caracteriza por adenomas profusos en el colon (desde 50 hasta más de 100) y transita con cánceres del SNC, específicamente del cerebro. Presenta dos variantes en dependencia del gen mutado. La primera variante transita con mutación germinal en el gen APC y en ella predomina el meduloblastoma; la segunda presenta mutaciones en los genes hMLH1 o hPMS2 y predomina el glioblastoma multiforme (5).

La poliposis juvenil se caracteriza por la presencia difusa de 10 o más pólipos hamartomatosos juveniles en el colon que también pueden aparecer en el estómago e intestino delgado. Se identifica molecularmente por las mutaciones en el gen de la proteína tirosina fosfato (PTEN) (1,5).

El síndrome de Peutz-Jeghers se caracteriza por la presencia de pólipos hamartomatosos en estómago, intestino delgado y colon. Transita con pigmentación mucocutánea de melanina casi siempre en la región perioral y se acompaña de mutaciones en el gen que codifica para la serina-treonina quinasa (STK11) localizado en 19p13.3 (1).

El HNPCC presenta adenomas sólo ocasionalmente, nunca de forma profusa. Su diagnóstico clínico requiere descartar la FAP. Los adenomas son generalmente mayores y más vellosos. La frecuencia de la aparición de adenomas es la misma de la población. Se caracteriza por la aparición de CCR a edades tempranas, predominante en colon derecho, con exceso de tumores sincrónicos y metacrónicos. Otros cánceres asociados son los de endometrio, ovario, intestino delgado, estómago, uretra y pelvis renal. La edad promedio al debut es de 44 años y se observa una rápida progresión adenoma-carcinoma. Tiene una variante conocida como síndrome de Muir-Torre que presenta además adenomas sebáceos, epitelomas sebáceos, y otros (5).

En 1991 se establecieron los criterios de Amsterdam (11) para confirmar el diagnóstico clínico de familias con HNPCC. Como estos criterios son bastante restringidos,

se han propuesto diversas modificaciones, y en la actualidad, las más conocidas son los Acuerdos de Bethesda, establecidos en 1997 (12) (Tablas I y II), y los de Amsterdam modificados (Criterios de Amsterdam II), que incluyen un nuevo criterio en el que se extiende el espectro de tumores incluyendo los cánceres de endometrio, intestino delgado, pelvis renal y uretra (13).

El HNPCC se caracteriza molecularmente por mutaciones germinales en los genes del sistema de reparación de apareamientos erróneos del ADN, fundamentalmente hMLH1 y hMSH2 y porque los tumores colorrectales presentan inestabilidad en microsátelites (5).

LA SECUENCIA ADENOMA-CARCINOMA

Las células de la mucosa normal del intestino son de origen policlonal y se desarrollan a partir de una variedad de células madre, mientras que los CCR son monoclonales (14).

Los CCR se desarrollan a través de etapas definidas que van desde lesiones en la cripta del colon a través de adenomas hasta manifestar el cáncer. Esta secuencia adenoma-carcinoma se caracteriza por la acumulación de múltiples mutaciones en genes supresores de tumor y oncogenes que afectan al balance entre la proliferación celular y la apoptosis (Fig. 2). La explicación más moderna

Tabla I. Criterios de Amsterdam (1991) (12)

1. Al menos tres familiares afectados con cáncer colorrectal
2. Al menos uno es familiar de primera consanguinidad de los otros dos
3. Se excluye FAP
4. Al menos dos generaciones sucesivas afectadas
5. Un cáncer de colon a edades <50 años

Tabla II. Acuerdos de Bethesda (1997) para testaje de inestabilidad en microsátelites en tumores colorrectales (12)

1. Individuos con cáncer en familias que cumplen los criterios de Amsterdam
2. Individuos con dos cánceres asociados a HNPCC, incluyendo CCR sincrónicos y metacrónicos^a
3. Individuos con cáncer colorrectal y un familiar de primer grado con CCR y/o cáncer extra-cólico asociado a HNPCC y/o un adenoma colorrectal: uno de los cánceres diagnosticado a <45 años de edad y el adenoma diagnosticado a <40 años de edad.
4. Individuos con CCR o cáncer de endometrio diagnosticado a <45 años de edad
5. Individuos con CCR localizado en el lado derecho con patrón no diferenciado (sólido/cribiforme) diagnosticado a <45 años de edad^b
6. Individuos con CCR del tipo célula en estampilla de sello de anillo diagnosticado a <45 años de edad^c
7. Individuos con adenomas diagnosticados a <40 años de edad

^aCáncer de endometrio, ovario, gástrico, hepatobiliar o de intestino delgado o carcinoma celular transicional de la pelvis renal o uretra. ^b Sólido/cribiforme definido como carcinoma pobremente diferenciado o no diferenciado compuesto por placas irregulares, sólidas de células eosinofílicas grandes y que contiene pequeños espacios en forma de glándulas. ^c Compuesto por >50% de células en estampilla de sello de anillo.

de la tumorigénesis se basa en el concepto de que cada uno de estos eventos mutacionales le confiere a cada una de las células del tumor una ventaja de crecimiento (14,15). Y cada evento que le sigue le confiere a la célula ventajas adicionales de crecimiento en comparación con el resto de las células del tumor que traen como resultado la expansión clonal en múltiples etapas y al final, la progresión del tumor (14,16).

Los eventos mutacionales comprenden pequeñas deleciones, inserciones o sustituciones de un solo nucleótido, pero también pueden ocurrir cambios genéticos mayores como amplificación génica o pérdida de cromosomas completos. Estas alteraciones afectan dos clases de genes diferentes: los proto-oncogenes y los genes supresores de tumor. La mayoría de las formas hereditarias de CCR presentan alteraciones en genes supresores de tumor (14).

Una clasificación más moderna (17) subdivide a los genes supresores de tumor en dos clases: porteros (*gatekeepers*) y guardianes (*caretakers*). Los porteros son genes que inhiben directamente el crecimiento tumoral o promueven la apoptosis, mientras que los guardianes inactivos no afectan directamente al crecimiento del tumor sino que conducen a la inestabilidad genómica y así contribuyen a un aumento general de la velocidad de mutación y aceleran el desarrollo del cáncer.

EL GEN APC

El gen *adenomatous polyposis coli* (APC) es el verdadero portero de la proliferación celular en el epitelio del colon.

El gen APC se identificó y caracterizó en 1991 (18,19). Se localiza en el cromosoma 5q21 y se encuentra formado por 8535 pb distribuidos en 15 exones, aunque en 1996, Thliveris (20) lo describió como un gen dividido en 21 exones. Codifica una gran proteína de 2.843 aminoácidos en su isoforma más común (21). El exón 15 ocupa >75% de la secuencia codificadora de APC y es la región mutacional más común tanto para mutaciones germinales como somáticas (22).

La proteína APC forma homo-oligómeros, se asocia con las cateninas y se expresa en varios tipos de tejido. Está compuesta por un dominio de oligomerización y una región armadillo en el extremo amino-terminal, un grupo de repeticiones de 15 y 20 aminoácidos en su porción central y un extremo carboxi-terminal que contiene un dominio básico y sitios de unión para otras proteínas. Los múltiples dominios de APC le permiten interactuar con otras proteínas. Cada dominio tiene su función específica para la actividad de la proteína (23).

El dominio de oligomerización le permite a la proteína formar homodímeros que consiste en su forma activa (24), mientras que la región armadillo al parecer le permite jugar un papel en la estabilización y motilidad del citoesqueleto, aunque no debe ser esencial para el rol de APC como gen supresor de tumor (23). Las repeticiones

de 15 aminoácidos le confieren a la proteína sitios de unión para la β -catenina y las de 20 presentan el sitio de unión para dicha proteína. Este sitio se ha encontrado que es esencial para la unión de la β -catenina (25).

Las mutaciones más frecuentes del gen APC dan lugar a proteínas truncadas inactivas. El dominio básico permite que APC se una a los microtúbulos (23).

A la proteína APC se le conocen diversas funciones (4):

1. Regulación de la señalización inducida por la β -catenina.
2. Regulación de la adhesión celular a través de la β -catenina y la E-cadherina.
3. Regulación de la migración celular por mediación de la interacción con los microtúbulos.
4. Bloqueo del ciclo celular tal vez mediante inhibición directa de los componentes del ciclo celular.
5. Regulación coordinada de la adhesión y motilidad celular (Fodde) (26).

LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt Y SU RELACIÓN CON LA PROLIFERACIÓN CELULAR

El desarrollo de tejidos y órganos en embriones está controlado por varias vías de señalización que interactúan para ofrecer información e inducir la especificación del destino celular. Uno de los sistemas principales de señalización es la vía Wnt (25). Las proteínas Wnt ("*wingless*") dirigen la diferenciación de varios tipos de célula en embriones de insectos y vertebrados (27).

Estas proteínas constituyen una familia de moléculas de señalización altamente conservadas que regulan las interacciones intercelulares durante la embriogénesis. Se ha probado que los genes Wnt también están implicados en el cáncer (28).

Se ha demostrado que la vía Wnt es esencial para mantener el compartimiento de las células madre en las criptas intestinales (29). Las células madre son células multipotentes que se encuentran en muchos tejidos y pueden seguir diversos destinos. Cuando se exponen a determinados factores de crecimiento y citoquinas generan progenitores que proliferan transitoriamente y después se retiran del ciclo celular para diferenciarse finalmente (30).

Las proteínas de la vía de señalización Wnt participan en diversos tejidos como la piel, tejido graso, tejido hematopoyético, y otros (25).

ROL DE APC Y β -CATENINA EN LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN Wnt

La proteína APC juega un rol sustancial en la regulación de la vía de señalización Wnt. Normalmente, APC formará un complejo con la β -catenina, la axina, la glucosiltransferasa 3 β (GSK 3 β) y otras proteínas. La

axina contiene sitios de unión para los componentes esenciales de la degradación de la β -catenina y la GSK 3 β lleva a cabo la fosforilación de la β -catenina en sus residuos serina y treonina (31).

Este marcaje de la β -catenina es suficiente para su inmediata degradación proteolítica vía la ubiquitina (32). Cuando no se forma el complejo, ya sea por una señal de la vía Wnt, inactivación de APC o una mutación de la propia β -catenina, la β -catenina no se fosforila ni se degrada sino que se acumula en el citoplasma y en el núcleo (33,34). Allí se asocia a miembros del factor celular T (TCF) y a la familia de activadores de la transcripción de genes involucrados con la proliferación celular como son los oncogenes c-myc y la ciclina D1. Ambas proteínas regulan el ciclo celular (35-38).

ROL DE APC EN LA ADHESIÓN INTERCELULAR

El hecho de que APC se una a la β -catenina implica que APC también juega su papel en la adhesión celular epitelial. Las cateninas se asocian con las cadherinas que median la adhesión intercelular (39). Esta unión constituye una estructura crítica del complejo de zona *adherens* que participa en la adhesión y en la comunicación intercelular. La E-cadherina sirve también de anclaje al citoesqueleto de actina (16). La E-cadherina es responsable de la adhesión célula-célula en las células epiteliales y para ello es fundamental que la catenina se una a un dominio citoplasmático de la misma (40). Este dominio tiene un motivo idéntico al de unión de la β -catenina en el APC. La interacción de la E-cadherina y la β -catenina está regulada por la fosforilación de la última y esta fosforilación sólo se llevará a cabo si se ha formado el complejo con el homodímero de la proteína APC (23). Por otra parte, APC contribuye a la migración ordenada de las células intestinales dentro de la cripta y la β -catenina juega un papel crucial en esta función (41).

SUCESOS EN LA CRIPTA DEL COLON

La microarquitectura del colon se caracteriza por criptas que tienen una profundidad de alrededor de 50 células. En el intestino delgado las criptas y vellosidades confieren suficiente superficie para la absorción de nutrientes. En el colon no es necesaria esta gran área ya que la absorción se restringe a agua solamente (4).

En el epitelio sano del colon hay una renovación casi constante y normal del epitelio superficial aproximadamente cada seis días mediante proliferación celular y diferenciación de las células de la cripta. La proliferación de los colonocitos se lleva a cabo en la porción in-

ferior de la cripta y se caracteriza por sufrir mitosis y porque las células del colon migran hacia la parte superior de la cripta alejándose de las células madre. La diferenciación y la maduración de las células recién nacidas se llevan a cabo a medida que estas suben a lo largo de la cripta (4). Las células maduras pierden su capacidad de dividirse de nuevo y finalmente mueren por apoptosis y exfolian a la luz intestinal.

En el adenoma esta secuencia está alterada. Ocurre mitosis continua y las células no sufren la diferenciación de manera que el compartimiento donde proliferan puede llegar a ocupar la cripta completa. El adenoma es una neoplasia benigna y aunque se acepta generalmente que los cánceres de colon surgen a partir de los adenomas del colon, se sabe que la mayoría de los adenomas no se desarrollan para formar carcinomas. La frecuencia exacta de progresión de un adenoma a cáncer no se conoce (16).

MODELO MOLECULAR DE CARCINOGENESIS COLORRECTAL

La survivina es un miembro de la familia de proteínas antiapoptóticas (42) que aparece sobre-expresada en los cánceres, no así en los tejidos adultos normales correspondientes (43). El proceso de apoptosis es la vía normal de muerte celular programada. Por otra parte, se ha planteado la posibilidad de que la survivina pueda participar en la regulación de la división celular (44), específicamente en la mitosis, y pueda jugar un papel fundamental en la función de los microtúbulos (45).

Veamos los sucesos moleculares que tienen lugar en la cripta del colon y cómo pudiera tener lugar la carcinogénesis colorrectal.

La survivina se expresa preferentemente en la parte inferior de la cripta normal del colon, donde residen las células madre encargadas de la proliferación celular. En la base de la cripta por tanto, tiene lugar la proliferación de células madre que a medida que van subiendo por la pared de la cripta se van diferenciando y madurando hasta alcanzar el ápice de la misma. La función de la survivina en la base de la cripta es por tanto, inhibir la apoptosis para que se puedan regenerar todas las células necesarias que sustituyan aquellas que serán eliminadas en el ápice y después exfoliarán a la luz intestinal. Por el contrario, la survivina será la encargada de conferirle a las células madre una supervivencia prolongada en esa región proliferante. En la base de la cripta no se ha encontrado actividad de la proteína supresora de tumor APC. En la parte media de la cripta del colon, la actividad de la survivina está disminuida, hecho que se correlaciona con que los colonocitos han dejado de proliferar y comienzan a diferenciar y madurar. Por otra parte, la mayor actividad de APC en esta región se ha asociado a la supresión de la survivina, planteándose una posible inhibición de la survivina por parte de APC. En la porción supe-

rior de la cripta se ha encontrado gran actividad de la proteína APC mientras que los niveles de survivina son bajos o inexistentes. En esta región ya se encuentran los colonocitos maduros que sufren posteriormente la apoptosis terminal y son eliminados al medio intestinal (46).

¿Cómo se podría iniciar la carcinogénesis en el colon? Una hipótesis muy factible es mediante la inactivación de APC debido a una mutación. Se ha comprobado que la mutación de APC es el evento molecular iniciador de la tumorigénesis colorrectal. Al inactivarse APC cuya función en el colonocito ya vimos podía ser la de controlar la proliferación celular a través de su asociación con la β -catenina, pues no habrá diferenciación ni maduración de los colonocitos y las células madre que están proliferando en la base de la cripta, subirán al ápice sin madurar. Pero también APC mutado no podrá inhibir la survivina por lo que la expresión de la survivina, se hará constitutiva inhibiendo la apoptosis y dando lugar a la acumulación anormal de células en el ápice de la cripta que formarán adenomas y después tumores. Estas células tienden a mantener su fenotipo natural de célula madre no diferenciada a medida que migran hacia el ápice de la cripta y continúan proliferando (46). Esta es la hipótesis que explica la carcinogénesis por la vía del "portero" que es APC.

LA VÍA DE LOS GUARDIANES

Existe otra vía posible que es mediante los genes "guardianes" que aunque no está tan bien fundamentada como la anterior, es otra vía de carcinogénesis colorrectal que da lugar a cánceres tanto esporádicos como familiares y hereditarios. Los genes de reparación de errores en el apareamiento de bases del ADN durante la replicación (MMR) son seis y se conoce que están implicados en la forma de cáncer colorrectal hereditario conocida como HNPCC (47).

Las células tienen que mantener la integridad del genoma para evitar la herencia de mutaciones perjudiciales por parte de las células hijas, así como la acumulación de mutaciones en los genes que controlan la proliferación celular. Si esta defensa se rompe, el resultado es el crecimiento de tumores malignos (48). Las células poseen diversos sistemas de reparación del ADN para poder garantizar la integridad de su genoma.

La función del sistema de reparación MMR es eliminar errores en el apareamiento entre bases, así como los lazos de inserción-delección que surgen como consecuencia de que la ADN polimerasa puede resbalar durante la replicación. Las primeras lesiones afectan el ADN no repetitivo y producen sustituciones de bases (por ejemplo, G→T), mientras que los lazos afectan el ADN repetitivo y traen como consecuencias ganancias o pérdidas de unidades cortas repetitivas (CA) dentro de microsatélites. Esto se conoce como inestabilidad en microsatélites (MSI) (48). Tanto en tumores colorrectales esporádicos como hereditarios (HNPCC), se puede encontrar la MSI pero es una característica distintiva de tumores colorrectales HNPCC. La ma-

yoría de los tumores que presentan MSI deben esta característica a la inactivación de uno de los genes MMR: el gen hMLH1. La inactivación es resultado mayormente de la hipermetilación y no de mutaciones somáticas o pérdida de heterocigosis (49). Sin embargo las mutaciones germinales asociadas a HNPCC son mutaciones en los genes de reparación mayormente en hMLH1 y hMSH2 y cuyos productos son indispensables para que se produzca la MSI (48).

El modelo probable de carcinogénesis por la vía de los guardianes se basa en un aumento en 100-1.000 veces mayor de la velocidad de mutación en comparación con la célula normal. Además de los microsatélites, las mutaciones recaen sobre genes que regulan la proliferación celular, especialmente aquellos que contienen secuencias repetitivas como diana de mutación (50). En HNPCC además de la mutación heredada en los genes MMR, se requiere de otra mutación somática para que se inactiven ambas copias del gen. Debido al error en el sistema MMR los errores que ocurren normalmente durante la replicación del ADN permanecen sin corregirse y de esta manera se acumulan las mutaciones hasta que se afectan diferentes regiones del genoma que pueden, a su vez, afectar ambas copias de genes supresores de tumor dando lugar a la aparición de este. La iniciación prolongada de dicho tumor está seguida de una rápida progresión gracias a la aceleración de la velocidad de mutación (13,14,16,17).

La probabilidad de que un individuo que tenga un defecto en el sistema MMR del ADN desarrolle un adenoma pudiera no ser mayor que la de la población general, pero una vez que se desarrolla el adenoma, su progresión a cáncer es más rápida en el individuo con el defecto en los genes de reparación ya que el ambiente del colon inducirá daños irreparables (4,51).

CONCLUSIÓN

Hemos visto que la carcinogénesis colorrectal puede dispararse mediante la inactivación de genes supresores de tumor, ya sean porteros o guardianes; que dicha inactivación se puede producir tanto por mutaciones como por hipermetilaciones de dichos genes; que existen otros genes que pueden sufrir mutaciones activadoras o inactivadoras como son los oncogenes y los genes que participan en el control de la proliferación celular y la apoptosis; que en todos los tumores se encuentra acumulación de múltiples mutaciones en los genes previamente mencionados y que en todos los cánceres colorrectales no se acumulan las mismas mutaciones, ni cualitativa ni cuantitativamente.

Evidentemente la vía de carcinogénesis colorrectal no es una sola y probablemente existan varios caminos para el inicio, desarrollo y progresión de un tumor colorrectal. En la actualidad no todo está aclarado pero cada paso que se dé en el desarrollo de las investigaciones sobre la carcinogénesis colorrectal será un paso de avance en el conocimiento de sus mecanismos y en la manera de poder evitar esta devastadora enfermedad.