

APC e inestabilidad cromosómica en el cáncer de colon

C. M. Cabrera y M. A. López-Nevot¹

Servicios de Anatomía Patológica y ¹Análisis Clínicos. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada

RESUMEN

El cáncer de colon es una enfermedad frecuente que puede ser esporádica o familiar. La inactivación del gen supresor de tumores APC (*adenomatous polyposis coli*) se ha encontrado en más del 80% de los casos descritos de tumores colorrectales, apareciendo como una alteración temprana durante el desarrollo del pólipo adenomatoso. La inactivación del gen APC no es únicamente crítica en el proceso de iniciación y desarrollo del tumor, sino que igualmente la inestabilidad cromosómica (CIN) es otra característica dependiente al menos en parte de la presencia de mutaciones en APC.

Palabras clave: Cáncer de colon. APC. Inestabilidad cromosómica.

INTRODUCCIÓN

El colon está organizado en compartimentos de células que constituyen las denominadas criptas colónicas. Está ampliamente aceptado que las lesiones adenomatosas se desarrollan a partir de las células *stem* o células madre localizadas en la base de las criptas (1). La progenie de células madre migra a través de las criptas y continúa dividiéndose hasta que alcanza la porción media de las mismas. En ese momento, las células paran de dividirse y comienzan a diferenciarse en células epiteliales maduras.

Cuando las células diferenciadas alcanzan la superficie externa de la cripta sufren un proceso de muerte por apoptosis y son entonces eliminadas por células estromales o se desprenden hacia el lumen de la cripta. Este viaje desde la base de la cripta hasta su ápice dura alrededor de 3-6 días (2,3). Normalmente, la tasa de nacimiento de células epiteliales colónicas iguala a la tasa de pérdida, pero si esta tasa se incrementa entonces se origina un proceso neoplásico.

Los tumores de colon atraviesan por diferentes estadios clínicos e histopatológicos, que van desde la formación de las criptas displásicas hasta la formación de tumores benignos, y carcinomas. Esta progresión es el resultado de una serie de cambios genéticos que implica la inactivación de genes supresores de tumores y la activación de oncogenes (4). La inactivación del gen APC es el evento más tempranamente identificado en el cáncer de colon esporádico, y se estima que más del 85% de los tumores de colon presentan mutaciones somáticas de APC (5).

APC: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

El gen APC codifica una proteína de gran tamaño con numerosos dominios y diferentes sitios de interacción

con otras proteínas. Esta proteína está presente en diferentes tejidos epiteliales, normalmente en células que experimentan procesos post-mitóticos (6). Los estudios inmunohistoquímicos muestran que APC aparece de forma difusamente distribuida en el citoplasma celular, aunque también se ha encontrado en las regiones apicales y laterales de las células epiteliales (6). La proteína APC participa en procesos celulares diversos que incluyen proliferación, diferenciación, apoptosis, adhesión, migración y segregación cromosómica (7).

La figura 1 muestra varios de los dominios que presenta la proteína APC, y sus regiones de interacción con otras proteínas. En el extremo amino-terminal (N) presenta la región conservada de repeticiones Armadillo, que interacciona con la subunidad reguladora B56 de la proteína fosfatasa-2A y con el factor intercambiador de guanina estimulado por Asef (8). Estas dos proteínas están implicadas en la vía de señalización Wntless (Wnt), de la cual es componente la proteína APC (8,9). Otro dominio importante incluye tres repeticiones de 15 aminoácidos que interactúan con la proteína β -catenina, y siete repeticiones de 20 aminoácidos que se requieren para la regulación negativa de β -catenina (10,11). Igualmente la proteína APC presenta sitios de unión con axina y conductina (12,13), dos proteínas inhibitoras de la ruta de señalización Wnt. La región carboxi-terminal (C) participa en la unión con microtúbulos y con la proteína de unión a microtúbulos EB1 (14).

El análisis mutacional de APC revela que la mayoría de las mutaciones germinales encontradas en pacientes con poliposis familiar hereditaria (FAP) son mutaciones sin sentido que generan codones *stop* y por tanto proteínas truncadas. Más del 60% de las mutaciones encontradas en APC se concentran en una región central de la proteína (entre los codones 1284-1580) que recibe el nombre de *mutation cluster region* (MCR) (15). La región MCR coincide con la región de APC que interviene en las funciones dependientes de β -catenina, lo cual sugiere que esta función es muy importante en la patogénesis del cáncer colorrectal. Diferentes estudios han demostrado que la proteína APC y β -catenina son partes importantes de la vía de señalización intracelular Wnt (Fig. 2). Gracias al estudio de la interacción de la proteína APC con la glucógeno-sintetasa quinasa-3 β (GSK-3 β) y con β -catenina ambas partes esenciales de la vía Wnt, se ha podido conocer el papel que desempeña APC en el desarrollo del cáncer de colon (5). La GSK-3 β se encuentra formando un complejo con APC, β -catenina y axina. La fosforilación de β -catenina por la enzima GSK-3 β , hace que β -catenina sea diana para su degradación proteolítica vía ubiquitina-proteasoma (16). Las formas de proteína APC truncadas producen la alteración del complejo, con lo cual la β -catenina no es degradada y se acumula en el citoplasma celular. La β -catenina libre es translocada al núcleo celular, donde interacciona con los factores TCFs (Fig. 2). El factor TCF4 es el miembro predominante de esta familia de factores de transcripción en células epiteliales de co-

lon; mediante la activación de esta vía se aumenta la expresión de oncogenes como c-Myc y ciclina D1 (17,18). Estas observaciones sugieren que β -catenina produce el aumento de expresión de genes dependientes de los factores de transcripción TCFs críticos en la proliferación y transformación de las células epiteliales colónicas. En este contexto es importante notar que las mutaciones que producen ganancia de función génica de β -catenina se han identificado en un 50% de los tumores de colon con el gen APC no mutado (19). Actuando por tanto β -catenina como un oncogen.

PAPEL DE APC EN LA INESTABILIDAD CROMOSÓMICA (CIN)

Estudios recientes han mostrado que el extremo carboxi-terminal (C) de la proteína APC está implicado en el mantenimiento de la estabilidad cromosómica durante el proceso de mitosis (20,21). APC se localiza en el cinetocoro de los cromosomas en metafase, y esta localización es dependiente de su interacción con la proteína EB1. De acuerdo con ello, aquellas células mutantes para APC tienen una gran abundancia de microtúbulos que son incapaces de unirse al cinetocoro y por lo tanto son responsables del fenotipo de inestabilidad cromosómica observado en estas células (22). En el modelo de ratón APC¹⁶³⁸ que presenta una mutación sin sentido el codón 1628 del gen APC, se genera una proteína truncada en el extremo carboxi-terminal responsable de las funciones relacionadas con la inestabilidad cromosómica-CIN pero retiene la región de regulación dependiente de β -catenina (20). Por lo tanto, las células madre aisladas de ratones homocigotos APC¹⁶³⁸ presentaron inestabilidad cromosómica (20). Sin embargo, los ratones que se desarrollaron fueron viables y no presentaron tumor. En contraposición, en el modelo clásico APC^{Min} que lleva una mutación sin sentido en el codón 850 que trunca la región amino-terminal necesaria para la función dependiente de β -catenina, los animales heterocigotos APC^{+/Min} desarrollan numerosos adenomas en el intestino (23). Estas observaciones ponen de manifiesto la ventaja selectiva que presentan las células tumorales de colon cuando pierden la función dependiente de β -catenina, y que por tanto la inestabilidad cromosómica resultante es una consecuencia de esta pérdida y no el proceso desencadenante del tumor.

PAPEL DE LA INESTABILIDAD CROMOSÓMICA EN EL INICIO DEL PROCESO TUMORAL

El cáncer colorrectal es uno de los mejores sistemas conocidos para el estudio de la genética de progresión tumoral. Se han identificado dos tipos de inestabilidad cro-

mosómica, siendo la predominante (y en la mayoría del resto de tumores sólidos) la inestabilidad cromosómica (24,25).

Las bases moleculares de la inestabilidad cromosómica se están empezando a conocer ahora (26). En *Saccharomyces cerevisiae* se han identificado un gran número de genes que pueden dar origen a un fenotipo CIN (27,28). Estos genes incluyen aquellos implicados en la condensación de las cromátidas hermanas, cohesión, estructura y función del cinetocoro, formación y dinámica de microtúbulos, y genes reguladores de la formación del huso mitótico. Este último grupo de genes está implicado en la aneuploidía de células tumorales humanas. En concreto, se han detectado mutaciones heterocigotas del gen regulador hBUB1 en una pequeña porción de tumores colorrectales con fenotipo CIN (29). Las mutaciones en el gen hBUB1 pueden funcionar de una forma dominante-negativa tanto en ratón como en células humanas (29, 30). Estos resultados se han confirmado igualmente mediante estudios de fusión celular que indican que el fenotipo CIN tiene un efecto dominante que únicamente requeriría un único evento mutacional o "hit" para producir un fenotipo CIN (31).

En pacientes con cáncer de colon la mayoría de las mutaciones en APC producen una proteína trunca-

da con pérdida del extremo carboxi-terminal (20). Sin embargo, algunas líneas celulares humanas de cáncer de colon bien caracterizadas con mutaciones en APC no presentan inestabilidad cromosómica después de miles de divisiones celulares *in vitro* (31,32). Por lo tanto es poco probable que únicamente la inactivación de APC conduzca por sí misma a un fenotipo CIN en el cáncer colorrectal humano.

CONCLUSIÓN

El hecho de que los defectos genómicos de diferentes genes puedan conducir a un fenotipo CIN, al menos en levadura, sugiere una base heterogénea para el fenotipo CIN, con muchos genes implicados cada uno de los cuales juega un pequeño papel en una pequeña porción de casos. Por ello el fenotipo CIN es tan frecuente en los tumores, ya que hay numerosos genes implicados que cuando mutan pueden originar este fenotipo. En los tumores de colon, la inestabilidad cromosómica observada probablemente no sea únicamente debida a la pérdida de la función de APC, sino que otros genes pueden estar implicados en este proceso.