
Carcinogénesis pulmonar

P. Iniesta Serrano

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid

INTRODUCCIÓN

El cáncer de pulmón es el resultado final de la acción de múltiples factores que lesionan el epitelio bronquial y representa el tipo tumoral más importante en cuanto a mortalidad en el mundo occidental. El principal agente ambiental implicado en la carcinogénesis pulmonar es el tabaco. Este agente es responsable del 90% de los casos en varones y del 55-80% de los casos entre las mujeres, en los países de mayor incidencia. Además, existe una asociación entre exposición ocupacional a otras sustancias (asbestos, radón, etc.) y aparición de cáncer de pulmón. El problema fundamental que conlleva el desarrollo de esta enfermedad es que no se ha encontrado una terapia que pueda ser considerada eficaz para paliarla y, en este sentido, cabe destacar la relevancia clínica que están adquiriendo los estudios acerca de los mecanismos moleculares implicados en la carcinogénesis pulmonar. Estas investigaciones van dirigidas fundamentalmente a la identificación de marcadores genéticos relacionados con la progresión tumoral, que puedan ser empleados como factores pronóstico útiles para el establecimiento de protocolos terapéuticos adecuados. Además, el conocimiento de la secuencia de cambios genéticos involucrados en el desarrollo del proceso tumoral broncogénico se piensa que permitirá, en un futuro próximo, llevar a cabo un diagnóstico temprano de la enfermedad y la identificación de individuos de alto riesgo (Fig. 1).

Además de los factores ambientales relacionados con el desarrollo del cáncer de pulmón, existen factores genéticos y metabólicos de susceptibilidad, como son los polimorfismos detectados en las enzimas implicadas en la metabolización de carcinógenos, o los defectos que afectan a los genes relacionados con la reparación de los errores en el DNA.

En el momento actual, se ha establecido que el cáncer de pulmón se desarrolla como consecuencia de la acumulación de múltiples alteraciones moleculares que afectan a secuencias génicas que codifican proteínas relacionadas con el control de la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis. Entre estas secuencias se incluyen, fundamentalmente, proto-oncogenes (reguladores positivos del crecimiento), genes supresores de tumores

(reguladores negativos del crecimiento) y genes relacionados con el control de los mecanismos de muerte celular programada. Además, se han detectado otros cambios moleculares, entre los que cabe destacar las deleciones y translocaciones que afectan a distintos locus génicos, la inestabilidad en secuencias microsatélite, la expresión desregulada de la telomerasa y factores implicados en angiogénesis. En la figura 2 se muestra un modelo sencillo en el que se recogen los principales acontecimientos moleculares que explican la progresión del cáncer de pulmón. De forma general, puede destacarse que los cambios no específicos que conducen a modificaciones en la estructura del DNA, seguidos de deleciones y/o ganancias de secuencias génicas en cromosomas concretos, habrían de ser considerados eventos tempranos que darían lugar a hiperplasia del epitelio pulmonar. Las alteraciones relacionadas con determinados genes supresores del crecimiento celular serían responsables de la progresión maligna y, como acontecimiento previo a la aparición del carcinoma *in situ*, se propone la activación de proto-oncogenes. Otras anomalías, como la reactivación de la telomerasa, proporcionarían ventaja proliferativa a las células afectadas.

En la tabla I se exponen las incidencias, tanto en tumores de pulmón no microcíticos como en microcíticos, de los principales factores moleculares relacionados con la génesis de la patología considerada. Si bien cualquiera de las alteraciones citadas en la tabla I sería suficiente, en principio, para llevar a cabo la transformación de las células normales en cancerosas, es la acumulación de defectos genéticos el hecho responsable de la malignización y progresión tumoral.

Además de los trabajos encaminados a la detección de factores genéticos de predisposición al cáncer de pulmón y los estudios conducentes a la identificación de estrategias de diagnóstico molecular aplicables a fluidos broncoalveolares o a muestras de esputo, que supondrían un enorme avance en la detección precoz de la enfermedad, las alteraciones genéticas que traen consigo la activación de proto-oncogenes o la inactivación de genes supresores de tumores constituyen los mecanismos moleculares estudiados con mayor frecuencia en muestras tumorales, en relación con el pronóstico del cáncer de pulmón.

ALTERACIONES EN PROTO-ONCOGENES

Dentro de este grupo, las mutaciones que afectan a los genes de la familia *Ras* han sido consideradas en un gran número de estudios relacionados con la patología tumoral de pulmón. Diver-

Correspondencia: Pilar Iniesta Serrano. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. 28040 Madrid
correo electrónico: insep@farm.ucm.es

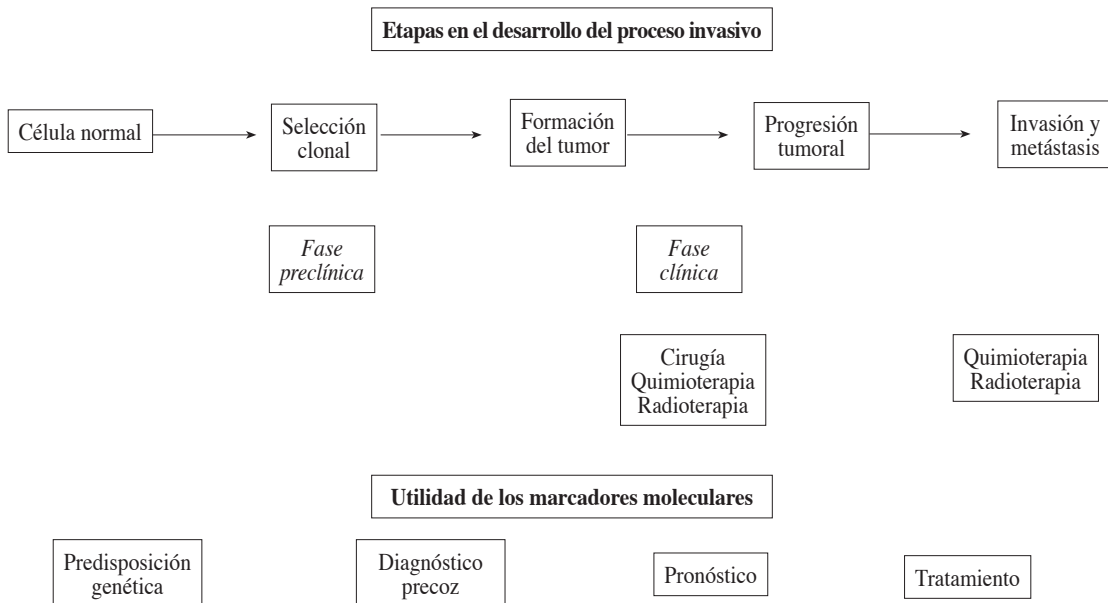


Figura 1. Utilidad de los marcadores moleculares en la clínica del cáncer broncogénico.

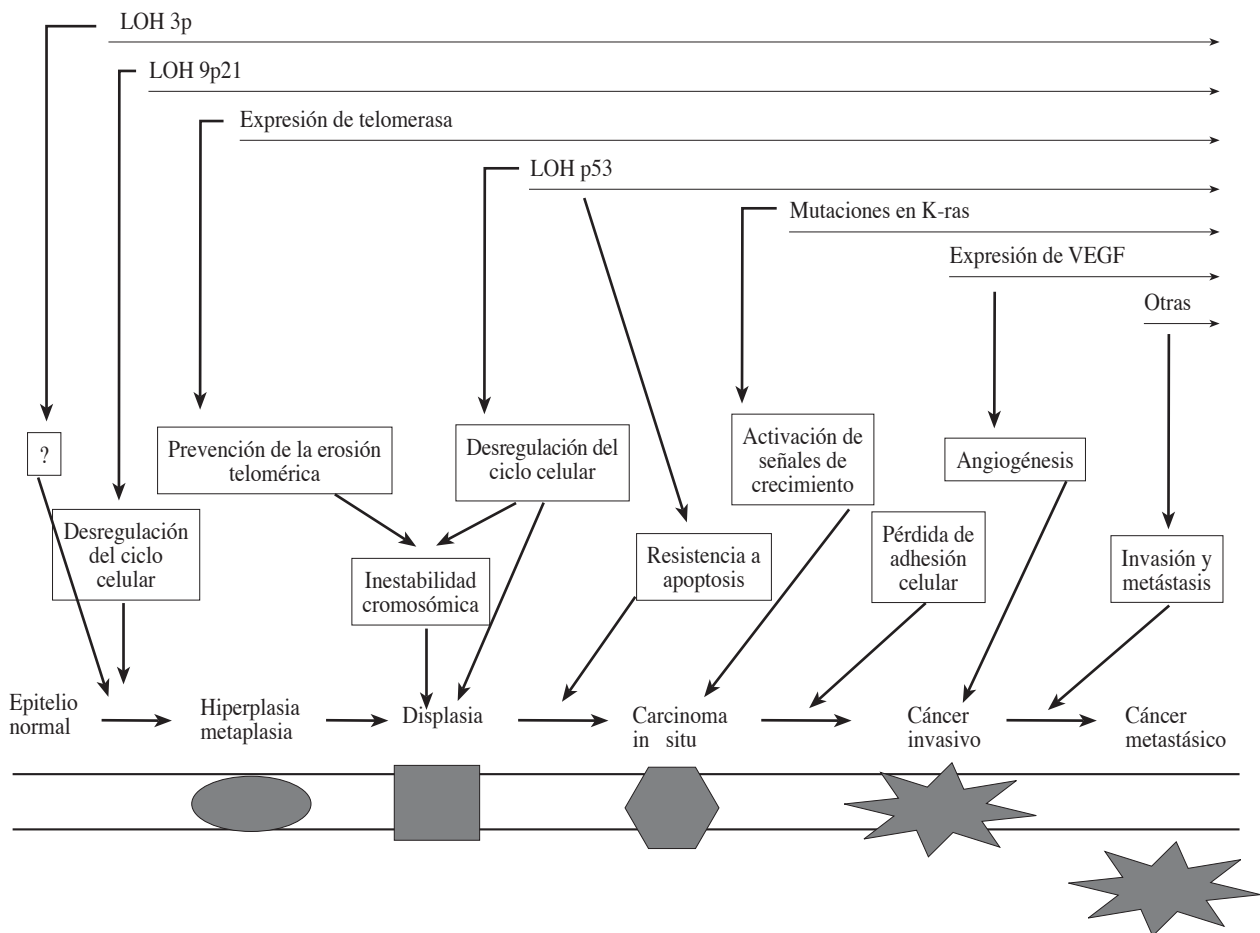


Figura 2. Secuencia de cambios moleculares implicados en la carcinogénesis pulmonar.

TABLA I. Principales alteraciones moleculares relacionadas con la génesis del cáncer de pulmón

Alteración molecular	Cáncer no microcítico de pulmón (CNMP)	Cáncer microcítico de pulmón (CMP)
Oncogenes		
• Mutaciones en <i>Ras</i>	15-20%	< 1%
• Amplificación de <i>Myc</i>	5-10%	15-30%
• Sobreexpresión de <i>ERBB2</i>	30%	
Genes supresores		
p53		
• Mutaciones en <i>p53</i>	50%	75-100%
• Expresión anormal de p53	40-60%	40-70%
<i>Retinoblastoma (RB)</i>		
• Ausencia de expresión de <i>RB</i>	15-30%	90%
p16		
• Mutaciones en <i>p16</i>	10-40%	< 1%
• Ausencia de expresión de p16	30-70%	0-10%
<i>LOH en 3p</i>		
	90%	100%
Genes antiapoptóticos		
• Expresión de <i>BCL-2</i>	10-35%	75-95%
Otros factores moleculares		
• Actividad telomerasa	80-85%	100%

Los autores han publicado resultados que asocian las mutaciones puntuales en el codón 12 del gen *K-ras*, y ocasionalmente las que afectan a los codones 13 y 61, con el desarrollo, fundamentalmente, de tumores no microcíticos. Además, la presencia de estas mutaciones se ha correlacionado con el consumo de tabaco, y se ha encontrado prevalencia de las que suponen cambios nucleotídicos tipo transversión, las cuales son responsables de la formación de aductos en el DNA y aparecerían como consecuencia de la acción de los hidrocarburos y nitrosaminas presentes en el humo del tabaco.

La activación de los genes de la familia *Myc* constituye un evento que se presenta con relativa frecuencia en los carcinomas microcíticos y, en menor medida, en los carcinomas no microcíticos de pulmón. El proceso de activación tiene lugar por mecanismos de amplificación génica o por alteraciones en la regulación transcripcional. En ambos casos la consecuencia es la sobreexpresión de la proteína codificada por estos genes, lo cual da lugar a la activación del crecimiento celular.

Los productos de la familia *ERBB*, un grupo de receptores transmembrana tirosina quinasa, están relacionados con la inducción de actividades quinasa que inician cascadas de transducción de señales intracelulares, entre las que se incluye la vía de las MAP quinasas. *ERBB2 (HER2/neu)* está sobreexpresado en aproximadamente el 30% de los tumores no microcíticos de pulmón, asociándose en mayor medida con el tipo histológico de los adenocarcinomas. Los niveles elevados de *ERBB2* se correlacionan, además, con resistencia a fármacos y con el potencial metastásico de estos tumores.

ALTERACIONES EN GENES SUPRESORES DEL CRECIMIENTO CELULAR

La proteína p53, implicada en el mantenimiento de la integridad del genoma, juega un papel crítico en el desarrollo del cáncer de pulmón. Su locus cromosómico (17p13) se ha encontrado

delecionado frecuentemente, y la presencia de esta alteración en uno de los alelos del gen suele asociarse con inactivación por mutaciones puntuales del otro alelo. Conjuntamente, el proceso descrito se ha detectado en el 75% de los tumores microcíticos de pulmón analizados por diferentes autores, y en el 50% del grupo de los no microcíticos. Además, las mutaciones en *p53*, detectadas en tumores de pulmón, se asocian con el consumo de tabaco. Algunas de las mutaciones puntuales descritas en *p53* conducen a un incremento de la vida media de la proteína, por lo que en principio los análisis de *p53* por inmunohistoquímica se correlacionaron con la existencia de mutaciones en el gen. Actualmente, sin embargo, se sabe que hay mutaciones en el gen que no se asocian con los resultados obtenidos por inmunohistoquímica, razón por la cual los análisis genéticos son determinantes en el estudio de *p53*. Algunos genes relacionados con *p53*, como *p21* y *MDM2*, han sido, asimismo, relacionados con el desarrollo del cáncer de pulmón.

Otra vía supresora del crecimiento celular que se ha encontrado frecuentemente alterada en procesos tumorales, en general, y en el cáncer de pulmón, en particular, es la de p16-ciclina D1-CDK4-RB. Esta vía es fundamental en el control de la transición G1-S en el ciclo celular. La inactivación del gen de Retinoblastoma (*RB*) constituye un evento bastante común en cáncer de pulmón. Las anomalías en la proteína RB han sido detectadas en el 90% de los tumores microcíticos y en el 15%-30% de los no microcíticos y son debidas a pérdida de función del gen como consecuencia de la existencia de diferentes tipos de mutaciones. Por otro lado la pérdida de función de *p16* representa asimismo una alteración frecuente en la tumorigénesis pulmonar. El mecanismo de acción de *p16* está directamente relacionado con el papel supresor de retinoblastoma y, por tanto, implica la parada del ciclo celular. La pérdida de expresión de *p16* se ha asociado con distintas anomalías presentes en el gen, entre las que destacan las deleciones homocigotas, la hipermetilación del promotor y las mu-

taciones puntuales. Estas alteraciones se detectan en una proporción elevada de tumores no microcíticos de pulmón y están estrechamente relacionadas con el mal pronóstico de estos carcinomas. Diversos autores consideran, en la actualidad, que el completo entendimiento de las propiedades multifuncionales de la vía supresora de retinoblastoma, en relación con la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis, así como la comprensión de las relaciones existentes entre éstas y la acumulación secuencial de otros defectos génicos, será esencial para dilucidar los patrones de inactivación genética observados en diferentes subtipos de cánceres de pulmón, y también en la investigación de posibles dianas terapéuticas útiles para paliar esta grave enfermedad.

Finalmente, las pérdidas de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 3 suponen uno de los eventos detectados con mayor frecuencia en tumores de pulmón, tanto microcíticos como no microcíticos. De hecho, se sospecha la existencia de un gen supresor con interés en tumorigénesis pulmonar que todavía no ha sido caracterizado, si bien existen varios candidatos que se localizan en las regiones cromosómicas 3p25-26, 3p21.3-22 y 3p14.

GENES RELACIONADOS CON EL CONTROL DE LA APOPTOSIS

Desde hace tiempo se sabe que las células tumorales escapan al proceso de apoptosis que debería desencadenarse en respuesta a daños genómicos que no pueden ser reparados por los sistemas celulares. Esta observación ha conducido al análisis de la expresión de genes que están relacionados con el control de la apoptosis. En cáncer de pulmón destacan los estudios llevados a cabo sobre *BCL-2*, gen antiapoptótico que se ha encontrado anormalmente expresado en la mayoría de los tumores microcíticos. En las poblaciones de tumores no microcíticos de pulmón evaluadas, la expresión aumentada de *BCL-2* se ha correlacionado en mayor medida con el tipo histológico de los carcinomas epidermoides.

OTROS FACTORES MOLECULARES

La **telomerasa**, enzima encargada de llevar a cabo la síntesis de los extremos de los cromosomas lineales, se ha encontrado reactivada en una alta proporción de los tumores de pulmón. Aunque la actividad de la enzima no puede considerarse un factor oncogénico, la realidad es que proporciona ventaja en la proliferación celular. Por tanto, las células con la telomerasa activa, sometidas a mayor número de procesos de división celular, tienen mayor probabilidad de acumular mutaciones responsables del desencadenamiento del proceso tumoral. Con relación al pronóstico, los tumores en los que la telomerasa está activa confieren al paciente un intervalo libre de enfermedad, después de la resección quirúrgica, claramente disminuido con respecto a los casos en los que la enzima se encuentra inactiva. Además, datos recientes indican la existencia de una asociación clara entre la reactivación de telomerasa y la presencia de otras alteraciones, entre las que cabe destacar la ausencia de expresión de p16, independientemente del estadio tumoral considerado. Por otra parte, el acortamiento crítico de las secuencias teloméricas constituye un parámetro relacionado con pronóstico adverso en cáncer no microcítico de pulmón.

La evaluación del impacto pronóstico de la función telomérica necesita, en todo caso, la consideración de los diferentes factores involucrados en el mantenimiento de los telómeros. Entre estos, además de la activación de la telomerasa, se han descrito mecanismos alternativos a la enzima y, probablemente, habría que analizar la posible intervención de mecanismos de reparación del

DNA, ya que, entre las proteínas de unión a telómeros, se han identificado algunos factores implicados en la señalización de daño en el DNA.

Asimismo, la **hipermetilación** de las islas CpG presentes en secuencias promotoras de una gran variedad de genes, está descrito como un evento relativamente frecuente en los tumores no microcíticos de pulmón.

FACTORES MOLECULARES DE RESISTENCIA A QUIMIOTERAPIA EN CÁNCER DE PULMÓN

Dentro de los agentes más utilizados en el tratamiento del CNMP cabe destacar el cisplatino y carboplatino, en combinación con agentes antimicrotúbulos. Actualmente, muchos de los estudios de marcadores de quimiorresistencia se centran en los factores genéticos y epigenéticos relacionados con la respuesta a estos fármacos. Por ejemplo, existen diferentes vías de reparación del DNA, entre las que cabe destacar la vía NER por su papel fundamental en la eliminación de los aductos del platino sobre el DNA. Dentro de esta vía, los genes *ERCC1* y *XPB* son cruciales en la capacidad de reparación del DNA y también, por tanto, en la respuesta a los tratamientos basados en agentes platinados.

En este sentido, se están desarrollando actualmente estudios de polimorfismos a nivel de genes reparadores, así como análisis de metilación aberrante de genes supresores tumorales, lo cual podría ser de utilidad para llevar a cabo una individualización de los tratamientos de quimioterapia en el cáncer de pulmón.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bremmes RM, Veve R, Hirsch FR, Franklin WA. The E-cadherin cell-cell adhesion complex and lung cancer invasion, metastasis, and prognosis. *Lung Cancer* 2002; 36: 115-24.
2. Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in Non-small Cell Lung Cancer. *Chest* 2002; 122: 1037-57.
3. Crowell RE, Belinsky SA. Genetic changes in lung cancer: Potential biomarkers for early detection and prevention. *J Lab Clin Med* 1997; 130: 550-7.
4. De Juan C, Iniesta P, Vega FJ, Peinado MA, Fernández C, Caldés T, et al. Prognostic value of genomic damage in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1998; 77: 1971-7.
5. De Juan C, Iniesta P, Cruces J, Sánchez A, Massa MJ, González-Quevedo R, et al. DNA amplification on chromosome 6p12 in non small cell lung cancer detected by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Int J Cancer* 1999; 84: 344-9.
6. González-Quevedo R, de Juan C, Massa MJ, Sánchez-Pernaute A, Torres A, Balibrea JL, et al. Detection of telomerase activity in human carcinomas using a TRAP-ELISA method: correlation with hTERT and hTERT expression. *Int J Oncol* 2000; 16: 623-8.
7. González-Quevedo R, Iniesta P, Morán A, de Juan C, Sánchez-Pernaute A, Fernández C, et al. Cooperative role of Telomerase activity and p16 expression in the prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2002; 20(1): 254-62.
8. González-Quevedo R, García-Aranda C, Morán A, De Juan C, Sánchez-Pernaute A, Torres A, et al. Differential impact of p16 inactivation by promoter methylation in Non-Small Cell Lung and Colorectal Cancer: Clinical implications. *Int J Oncol* 2004; 24: 349-55.
9. Granville CA, Dennis PA. An overview of lung cancer genomics and proteomics. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 32: 169-76.
10. Iniesta P, González-Quevedo R, Morán A, García-Aranda C, De Juan C, Sánchez-Pernaute A, et al. Relationship between 3p deletions and Telomerase activity in Non-Small Cell Lung Cancer: Prognostic implications. *Br J Cancer* 2004; 90(10): 1983-8.

11. Kaye FJ. Rb and cyclin dependent kinase pathways: defining a distinction between Rb and p16 loss in lung cancer. *Oncogene* 2002; 21: 6908-14.
12. Kopper L, Timar J. Genomics of lung cancer may change diagnosis, prognosis and therapy. *Pathol Oncol Res* 2006; 11(1): 5-10.
13. Osada H, Takahashi T. Genetic alterations of multiple tumor suppressors and oncogenes in the carcinogenesis and progression of lung cancer. *Oncogene* 2002; 21: 7421-34.
14. Rosell R, Taron M, Ariza A, Barnadas A, Mate JL, Reguart N, et al. Molecular predictors of response to chemotherapy in lung cancer. *Semin Oncol* 2004; 31 (Suppl 1): 20-7.
15. Sánchez-Pernaute A, Torres A, Iniesta P, Hernando F, Gómez A, González O, et al. Prognostic significance of *p53* gene mutations in squamous cell carcinoma of the lung. *Oncology Reports* 1998; 5: 1129-33.
16. Tsou JA, Hagen JA, Carpenter CL, Laird-Offringa IA. DNA methylation analysis: a powerful new tool for lung cancer diagnosis. *Oncogene* 2002; 21: 5450-61.
17. Tyczynski JE, Bray F, Parkin DM. Lung cancer in Europe in 2000: epidemiology, prevention, and early detection. *The Lancet Oncology* 2003; 4: 45-55.
18. Vega FJ, Iniesta P, Caldés T, Sánchez A, López JA, de Juan C, et al. Association of K-ras codon 12 transversions with short survival in non-small cell lung cancer. *Int J Oncol* 1996; 9: 1307-11.
19. Vega FJ, Iniesta P, Caldés T, Sánchez A, López JA, de Juan C, et al. p53 exon 5 mutations as a prognostic indicator of shortened survival in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1997; 76: 247-51.
20. Wang DG, Johnson CF, Sloan JM, Buchanan KD. Expression of Bcl-2 in lung neuroendocrine tumours: comparison with p53. *J Pathol* 1998; 184: 247-51.
21. Wright GS, Gruidl ME. Early detection and prevention of lung cancer. *Current Opinion in Oncology* 2000; 12: 143-8.
22. Zöchbauer-Müller S, Gazdar AF, Minna JD. Molecular pathogenesis of lung cancer. *Ann Rev Physiol* 2002; 64: 681-708.