

# Cancerogeneza

## II.1 GENERALITATI

De la versiunea lui R. A. Willis, larg acceptata in urma cu cativa ani, privind definitia cancerului, care sustinea ipoteza conform careia cancerul este o masa anormala de tesut a carei crestere in exces si fara coordonare fata de tesuturile normale persista si dupa disparitia stimulilor care au declansat-o, prin intermediul cercetarilor din ultimii ani s-a ajuns la o noua formulare a acestei definitii. Astazi, desi nu este uniform acceptata ca o definitie a cancerului, se sustine ca acesta este o boala genetica a celulelor somatice, manifestata printr-o acumulare de celule, ca rezultat al unei expansiuni clonale, si totodata o boala a diferentierii celulare, deoarece aceste celule care continua sa prolifereze, raman relativ imature functional, iesind de sub controlul mecanismelor care in mod normal regleaza functia si structura tesuturilor organismului.

Aparent, problema originii cancerului ar fi simpla daca s-ar putea explica transformarea maligna a primei celule. In aceasta directie s-au emis mai multe ipoteze de-a lungul timpului, care in raport cu argumentele pe care se bazeaza, pot fi grupate in 4 categorii:

- 1) teoria mutatiei genetice;
- 2) teoria diferentierii aberante;
- 3) teoria virotica;
- 4) teoria selectiei celulelor.

Conform acestor teorii, are loc la un moment dat, datorita unui factor, o dereglare a ciclului biologic normal al celulei, dereglare ce reprezinta primul pas al oncogenezei.

## II.2 CICLUL CELULAR NORMAL SI MECANISME DE CONTROL

### II.2.1 Ciclu celular

Ciclul celular reprezinta totalitatea modificarilor si transformarilor suferite de celula in timpul procesului de replicare si diferentiere.

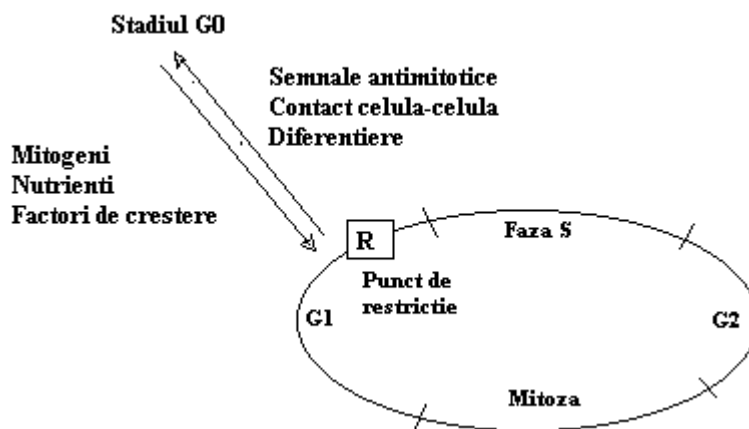
Intr-o populatie de celule ce se divid, replicarea si diviziunea unei celule in doua celule fiice identice cuprinde 2 faze functionale si 2 faze preparatorii (figura 1).

Fazele functionale sunt reprezentate de :

- copierea precisa a ADN-ului: faza S (de replicare a ADN);
- segregarea sau impartirea setului de cromosomi intre cele doua celule fiice: faza M (mitoza).

Celula se pregateste biologic pentru faza S intr-o faza preparatorie, numita G1 si pentru mitoza intr-o faza mult mai putin inteleasa, G2.

Celulele ce nu se mai divid pot fi permanent scoase din ciclul celular prin diferentiere terminala, sau pot fi oprite intr-o stare intermediara, G0, (celular resting). Evenimentele ce presupun desfasurarea unui ciclu celular intervin intr-un mod organizat, astfel incat anumite evenimente se termina inainte ca altele sa inceapa. Aceasta ordina a evenimentelor este controlata de o serie de mecanisme de control intracelulare incomplet elucidate si este influentata de factori extracelulari: factori de crestere, mitogeni si antimitogeni, inductori de diferentiere, contact celula-celula sau factori de ancorare, nutrienti, etc.



**Fig. 1.** Fazele ciclului celular

Notatii:

Go=faza de repaus  
G1=faza de presinteza ADN  
G2=faza de postsinteza ADN  
S =faza de replicare a ADN-ului  
M=faza de mitoză

## II.2.2 Controlul ciclului celular

Factorii ce influențează ciclul celular sunt:

✓ Factori extracelulari:

- factori de creștere;
- factori mitogeni;
- factori antimitogeni;
- inductori ai diferențierii celulare;

✓ Factori intracelulari:

- ciclina;
- cdk - kinaze ciclin dependente;
- proteine codate de gene supresoare ale tumorii:-p53, Rb-1;
- PCNA - proliferating cell nuclear antigen;
- gena myc.

Abilitatea celulei de-a produce o copie exactă a ei înșiși, prin diviziune, este o componentă esențială a vieții celulare. Acest proces trebuie realizat cu mare fidelitate, astfel încât organismele să fie capabile să se înmulțească. Mecanismul molecular de control al ciclului celular utilizat de celulă are un nivel înalt de organizare și este relativ bine conservat în cursul evoluției speciilor.

Ne aflăm de-abia la începutul revelației mecanismului implicat în acest proces complicat, în care sunt implicate numeroase semnale intra- și extracelulare. Deși în timpul procesului evoluției și al diferențierii celulare pot interveni anumite schimbări subtile, genetice sau epigenetice, în orice fază a ciclului celular, aceste schimbări trebuie să se producă într-un mod controlat, pentru a preveni urmări dezastruoase.

Lipsa fidelitatii in procesul de reproducere a celulelor creaza o situatie de instabilitate genetica care pare a fi un factor contributiv semnificativ in dezvoltarea celulelor maligne in organismele eucariote avansate.

Deci nu este surprinzator ca boala canceroasa este caracterizata printr-o reglare anormala a cresterii si a reproducerii celulare. Pentru a intelege cum debuteaza cancerul si pentru a dezvolta strategii optime pentru a elimina celulele canceroase, trebuie sa fie identificate diferentele, chiar la nivel molecular, intre celula normala si celula canceroasa.

Fenomenul cheie al tranzitiei de la o etapa la alta a ciclului celular este reprezentat de actiunea enzimatica a unei anumite *kinaze ciclina-dependenta*. Forma activa a acestor enzime se realizeaza prin formarea unui complex cu o anumita proteina *specifica* unui anumit stadiu al ciclului celular. Aceste proteine se numesc ciclone (Tabelul 2).

**Tabel 2** - Kinazele ciclina dependente (cdk), ciclonele si substraturile kinazelor din diverse faze ale ciclului celular

FAZA	KINAZA CICLIN- DEPENDENTA	CICLINA	SUBSTRATUL KINAZELOR
G1	cdk2	Ciclina D	Rb-1
G1/S	cdk2	Ciclina E	Rb-1
S	cdk2	Ciclina A	?
G2/M	cdk2	Ciclina B/A	?

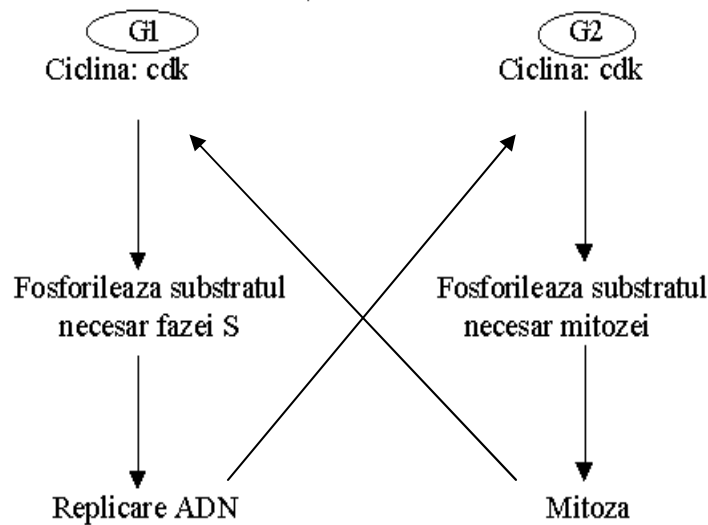
Dat fiind ca progresia celulei in ciclul celular este conditionata de activitatea cdk, controlul activitatii acestor enzime si a complexelor pe care acestea le formeaza cu ciclonele, constituie un mecanism esential de reglare a ciclului celular. Acest tip de control actioneaza la mai multe niveluri:

### **1. Sinteza ciclinelor**

Conditionarea sintezei unui anumit tip de ciclina se face in functie de etapa ciclului celular. Din punct de vedere cantitativ, sinteza de ciclone depinde de:

- amploarea semnalelor extracelulare ce favorizeaza proliferarea (hormoni, factori de crestere);
- intensitatea degradarii proteolitice a ciclinelor.

Complexul cdk-ciclina activat fosforileaza substraturile necesare tranzitiei celulei la urmatoarea faza a ciclului (Fig. 3).



*Fig. 2.*Controlul ciclului celular prin kinaze ciclin-dependente

**2. Blocarea activitatii enzimaticice a cdk** – se realizeaza prin fosforilarea cdk sau prin legarea lor de inhibitori ai kinazelor ciclin-dependente (CKI), proces ce impiedica formarea complexului activ cu ciclinoele (Tabelul 3).

**Tabel 3** - Complexele cdk-ciclina si inhibitorii acestora in functie de etapele ciclului celular

<b>COMPLEXUL CDK-CICLINA</b>	<b>KIP</b> (inhibitori ai cdk)	<b>INK</b> (proteine inhibitoare ale kinazelor)	<b>FAZA</b>
<b>cdk 4-Ciclina D</b>	p21 p27	p15, p16 p18, p19	G1
<b>cdk 2-Ciclina E</b>	p21, p27	-	G1/S
<b>cdk 2-Ciclina A</b>	p 21	-	S
<b>cdk 2-Ciclina B</b>	p21	-	G2/M

Mai explicit, activitatea cdk este controlata la cel putin 6 nivele:

1. Fiecare ciclina este sintetizata intr-un anumit stadiu al ciclului celular. Ciclinele D si E sunt sintetizate in faza G1, ciclina A in fazele S si G2, ciclina B in fazele G2 si M;
2. Degradarea ciclinelor este reglata in mod riguros;
3. Ciclina poate forma un complex cu o cdk (kinaza ciclin-dependenta);
4. Acest complex devine activ prin actiunea unei CAK (cdk activating kinase);
5. Cdk sunt inactivate prin fosforilare in pozitia Thr14 si Tyr15 si pot fi reactivate prin actiunea unei fosfataze in aceleasi pozitii,
6. Proteine inhibitoare de cdk pot preveni asamblarea complexelor cdk-ciclina, fie inactiva cdk din complexele formate;

Complexul cdk-ciclina activat fosforileaza substratele necesare tranzitiei celulei la urmatoarea faza a ciclului.

**3. Anumite evenimente intracelulare sau extracelulare pot determina oprirea parcurgerii ciclului celular:**

- denutritia;
- schimbari drastice de temperatura;
- factori de stress;
- alterarea ADN-ului, etc.

Afectarea ADN-ului celular este cel mai studiat semnal de initiere a sistemelor de control ale ciclului celular. Detectarea de erori de copiere a genomului celular determina sechestrarea celulelor in faza G1 sau, daca aceasta a fost depasita, in faza S, inhibandu-se atat initierea replicarii, cat si elongatia. Blocarea ciclului celular se face prin intermediul inhibitorilor kinazelor ciclin-dependente.

#### **4. Exista mecanisme specifice de reglare a fiecarei etape ale ciclului celular:**

- *Tranzitia G1 - S*

In faza G1 a ciclului celular exista un punct de control cunoscut drept punct de restrictie, R. El marcheaza fosforilarea proteinei Rb (a retinoblastomului) prin interventia complexului holoenzimatic format de **cdk 4** cu **ciclina D**. Consecinta este anularea actiunii inhibitorii pe care o are proteina Rb in forma hipofosforilata si legarea acesteia la nivelul unor secvente specifice ale ADN-ului prin intermediul unor factori de transcriptie de tipul proteinei myc. Actiunea inhibitorie a proteinei Rb inainte de fosforilare se manifesta prin legarea de un alt factor de transcriptie, E2F. Complexul astfel format este capabil sa lege ADN-ul, dar nu poate initia transcriptia. E2F devine capabil sa-si indeplineasca rolul de factor de transcriptie doar dupa fosforilarea proteinei Rb, cand factorul E2F redevine liber. Astfel se activeaza transcriptia genelor ai caror produse sunt necesari pentru trecerea la faza S a ciclului celular si pentru desfasurarea corespunzatoare a copierii ADN-ului. Se considera ca proteina Rb este factorul-cheie pentru trecerea in faza S a ciclului celular.

Alterarea ADN-ului celulei aflate in faza G1 induce sinteza in cantitati mai mari a proteinei oligodimerice p53. Aceasta induce transcriptia genei p21, sintetizandu-se astfel cantitati crescute de proteina p21, un inhibitor multipotent al kinazelor ciclin-dependente. Consecinta finala este inhibarea fosforilarii proteinei Rb si, deci, blocarea progresiei ciclului celular. Se considera ca proteina p53 induce si transcriptia unor compusi implicati in procesele de reparatie a ADN-ului. In conditiile in care defectul este mult prea grav pentru a fi reparat, p53 contribuie la declansarea apoptozei.

- *Faza S*

Mecanismele de reglare a parcurgerii fazei S nu sunt suficient cunoscute. Se stie ca, imediat dupa initierea replicarii ADN-ului, se formeaza complexul activator, cdk-ciclina A. Consecinta este fosforilarea si, deci, activarea proteinelor care se leaga la nivelul situsurilor de replicare autonoma unde debuteaza acest proces. Odata ce ADN-ul a fost copiat in intregime, celula intra in faza G2.

- *Tranzitia G2-M*

Primul factor reglator descris ca fiind implicat in tranzitia de la faza G2 la faza M a fost factorul de promovare a mitozei, MPF. MPF este de fapt complexul cdk2-ciclina B care, actionand pe un substrat-cheie necunoscut, determina trecerea la faza M.

- *Faza M*

Faza debuteaza dupa activarea complexului cdk2-ciclina B. Iesirea din faza mitozei si intrarea in stadiul G1 este marcata de distructia proteolitica a ciclonei B si de inactivarea cdk2.

## **5 Reglarea extracelulara a ciclului celular**

Celula integreaza continuu semnale extracelulare cu rol in controlul mecanismelor de diviziune celulara. Statutul nutritional, contactul celula-celula si peptidele extracelulare influenteaza evenimentele intracelulare.

- **Apoptoza (moartea celulara programata)**

Este o maniera particulara de cenzurare a anormalitatilor de desfasurare a ciclului celular. Pentru producerea apoptozei se consuma energie sub forma de ATP. In celulele supuse apoptozei, cromatina nucleara se condenseaza, nucleul se fragmenteaza, iar membrana celulara se mentine integra pana in stadiul final, cand celulele apoptotice se rup,



formeaza corpii apoptotici ce sunt fagocitati de macrofage. In inducerea apoptozei sunt implicati produsi care controleaza ciclul celular: p53, Rb, etc. Exista mai multe situatii care pot induce declansarea apoptozei. S-a presupus ca acest fenomen survine fie cand celula receptioneaza semnale contradictorii, fie cand celula nu primeste semnale de supravietuire (factori de crestere, hormoni) din mediul extracelular, fie ca raspuns la modificarile marcante aparute la nivelul ADN-ului.

S-au descris proteine anti-apoptotice care inhiba proteina bax (inductoare a apoptozei). Este vorba de proteina bcl-2 (localizata in mitocondrii, membrana nucleara si reticulul endoplasmatic) si de proteina bcl-X1. Se presupune ca aceste proteine induc intrarea celulei intr-o stare putin activa din punct de vedere metabolic, protejand-o astfel de apoptoza, proces consumator de ATP.

### **II.3. ONCOGENEZA**

Modificarea patognomonică a celulelor canceroase este dereglarea sistemelor de control ale ciclului celular, care modulează transformarea neoplazică a celulelor. Această transformare implică în mod cert mutații ale genelor care codifică factori de control ai ciclului celular.

În condiții fiziologice, proliferarea celulară este controlată de două tipuri de reglatori, cu acțiuni antagoniste: - activatori și inhibitori

În procesele patologice, inițial se produce o ușoară modificare a proliferării celulelor normale, determinată de factori:

- ✓ exogeni
- ✓ endogeni

Factorii endogeni implicați în cancerul de sân sunt reprezentați de hormoni (estrogeni, progesteron) sau factori de creștere (FGF- factor de creștere fibroblastic, EGF- factor de creștere epidermal, etc.). Factorii exogeni sunt extrem de variați, cuprinzând radiații ionizante, infecții virale, substanțe toxice, factori alimentari, etc.

Ulterior au loc mutatii spontane care sunt consecinta fie a instaurarii unor cicluri celulare hiperactive, fie a deficientelor de inducere a apoptozei, scazand astfel sansele de remediere a eventualelor erori aparute in replicarea ADN-ului. Odata ce mutatiile au inceput sa apara, se declanseaza o cascada de modificari genetice, acumulandu-se noi mutatii. Astfel, malignizarea se desfasoara pe un fond de instabilitate genetica ridicata.

Se considera ca pentru dobandirea unui genotip malign sunt necesare in medie 6 mutatii. Exista 2 categorii principale de gene care sufera mutatii:

- ◆ oncogenele;
- ◆ genele supresoare ale tumorii.

### II.3.1.ONCOGENELE

Sunt gene a caror produsi stimuleaza proliferarea celulara. Variantele normale, fara mutatii, a acestor gene, se numesc proto-oncogene. Acestea sunt active mai ales in perioada de embriogeneza si, post-natal, in tesuturile din compartimentul proliferativ, situatie in care rata de proliferare depaseste rata de distructie (Tabelul 4).

Mutatiile prin care se activeaza proto-oncogenele sunt, aproape intotdeauna somatice, de aceea sunt foarte rare cazurile in care oncogenele au fost mostenite de la genitori. Sunt gene de tip dominant, deci modificarea unei singure alele duce la modificarea fenotipului celulei

**Tabel 4** - Oncogenele implicate in biologia cancerului mamar

<b>CLASA</b>	<b>GENA</b>	<b>LOCALIZAREA CROMOSOMIALA</b>	<b>PROTEINA CODIFICATA</b>
<i>Factori de crestere</i>	<b>Int-2</b>	<b>11q3</b>	FGF-like (molecula similara factorului de crestere fibroblastic)
<i>Receptori pentru factori de crestere</i>	<b>c-erbB2</b>	<b>7p11</b>	Receptor-like pentru EGF (factor de crestere epidermal)
<i>Proteine semnal</i>	<b>K-ras</b> <b>N-ras</b>	<b>11p15</b> <b>1p22</b>	GTP-aza GTP-aza
<i>Factori</i>	<b>c-myc</b>	<b>8q24</b>	Factor de transcriptie omonim

<i>de transcriptie</i>			
<i>Proteine neclasificate</i>	<b>Bcl-2</b>	<b>18q21</b>	Proteina cu actiune antiapoptica

Mutatiile prin care se activeaza proto-oncogenele sunt, aproape intotdeauna, somatice. Prin urmare, de la genitori se mostenesc doar proto-oncogenele, nu variantele lor maligne.

### II.3.2. GENELE SUPRESOARE ALE TUMORII

Produsul acestor gene inhiba proliferarea celulara; in celulele maligne isi pierde functionalitatea ca urmare a mutatiilor. Sunt gene de tip recesiv, fapt care permite statutul de heterozigot pentru gena modificata, fara ca acest lucru sa determine imbolnavirea. Fenotipul malign apare doar in cazul in care si gena alela normala devine mutanta (Tabelul 5).

**Tabelul 5** –Gene supresoare de tumori implicate in forme de cancer mamar ereditar

<b>ANTIONCOGENE</b>	<b>LOCALIZARE CROMOSOMIALA</b>	<b>FUNCTIE</b>	<b>FORMA DE CANCER MAMAR EREDITAR</b>
<b>p53</b>	<b>17p13</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Factor de transcriptie</li> <li>• Reparatia ADN</li> <li>• Apoptoza</li> </ul>	Sindrom Li-Fraumeni
<b>BRCA1</b>	<b>17q21</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reparatia rupturilor bicatenare ale ADN</li> </ul>	Cancerul mamar familial tip 1
<b>BRCA2</b>	<b>13q12</b>		Cancerul mamar familial tip 2

### II.3.3.CARACTERISTICILE FENOTIPICE ALE CELULELOR MALIGNNE

- **Imortalitatea**

Majoritatea celulelor diploide au o limita de viata in culturi; de exemplu liniile de fibroblasti umani pot trai pana la 50-60 de diviziuni succesive (generatii), apoi viabilitatea populatiei scade si celulele se pot transforma spontan.

Celulele maligne, odata stabilizate in culturi, vor trai pentru un numar indefinit de generatii, daca sunt aprovizionate cu factori de crestere si nutrienti. De obicei, aceste celule se modifica in timp, suferind schimbari cariotipice (de ex. cresterea numarului de cromosomi -poliploidie).

- Scaderea inhibitei cresterii dependente de densitate
- Scaderea cerintelor de factori de crestere
- Pierderea capacitatii celulelor de ancorare de suprafete
- Pierderea controlului asupra ciclului celular si rezistenta la apoptoza
- Schimbari in structura si functiile membranei celulare
- Aglutinarea celulelor transformate

Pierderea dependentei de ancoraj este una din proprietatile cele mai asociate cu tumorigenicitatea. Nu se stie ce alterare a functiei celulare provoaca pierderea acestei proprietati, dar se pare ca este legata de anumite proprietati ale membranei celulare.