

El ciclo celular: características, regulación e importancia en el cáncer

✉ Lourdes Rodríguez Fragoso, Efrén Hernández Baltasar,
Jorge A Reyes Esparza

Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Avenida Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca 62210, Morelos, México
E-mail: mlrodrig1@yahoo.com.mx

RESUMEN

En los últimos años hemos sido testigos del gran acúmulo de evidencias experimentales y clínicas que apoyan la idea de que la maquinaria del ciclo celular es, comúnmente, el blanco de la carcinogénesis. Hoy en día, se sabe que existe una variedad de proteínas que regulan y controlan el ciclo celular y de ellas depende que exista la homeostasis celular, es decir, el balance entre la proliferación y la muerte. Una de las características fundamentales de las células cancerosas es la pérdida de su capacidad para mantener ese equilibrio. Recientes avances han mostrado que en muchos tumores están frecuentemente alterados los mecanismos que controlan la progresión o detención del ciclo. En la actualidad, los conocimientos sobre el ciclo celular son de gran valor para hacer el diagnóstico diferencial, y determinar el pronóstico de algunos cánceres; así mismo, pueden establecer el perfil del tumor, lo que permitirá introducir blancos tumorales para el diseño de nuevas estrategias de tratamiento individualizado del cáncer. A través de esta revisión, se pretende introducir al lector al fascinante conocimiento de los mecanismos que controlan la progresión del ciclo celular y las alteraciones que se han observado en el cáncer.

Palabras claves: ciclo celular, cáncer, ciclinas

Biotecnología Aplicada 2004,21:60-69

REVISIÓN

ABSTRACT

Cell cycle: characteristics, regulation and role in cancer. In the past several years have witnessed a dramatic accumulation of experimental and clinical evidence supporting the notion that the cell cycle machinery is commonly the target on carcinogenesis. Now it is well known that a variety of proteins regulate and control the cellular cycle, and from that depends that cellular homeostasis occurs. One of the most important characteristics of tumor cell is the lost of capacity to maintain those balance. Cancer is a consequence of malfunction of replicative cell cycle caused by acquisition of independence from proliferative and restrictive controls in the process. At the present, the knowledge on the cellular cycle is being of great value to make the differential diagnosis, and to determine the prognosis of some cancers. In addition to, it is allowing to establish the profile of the tumor to introduce tumorlike targets for the design of new strategies for the individualized treatment of the cancer. Through this revision we try to introduce to reader to the fascinating knowledge of the mechanisms that control the progression of the cellular cycle and the alterations that have been observed in the cancer.

Key words: cell cycle, cancer, cyclins

Introducción

En la actualidad, el estudio del ciclo celular está retomando importancia en el ámbito clínico, por su significativo papel en el cáncer [1, 2]. Hoy en día se sabe que una gran variedad de agentes pueden lesionar a las células y que ponen en movimiento una serie de eventos que sirven para detener el daño, repararlo, preparar a la célula dañada para la replicación, o bien la llevan a la transformación maligna [3, 4].

¿Qué hace que una célula empiece el complicado proceso de la división celular? ¿Cómo se detiene? ¿Qué sucede cuando las cosas no están bien? A través de esta revisión se pretende contestar estas interrogantes e introducir al lector al fascinante conocimiento de los mecanismos que controlan la progresión del ciclo celular.

La investigación del ciclo celular es una de las áreas más excitantes en la biología contemporánea actual. La comprensión del ciclo celular forma parte de los conocimientos básicos que todo investigador en el campo de las ciencias biomédicas debe saber hoy en día, sobre todo si su campo de investigación es la oncología. A través de esta revisión se pretende

introducir al conocimiento de los mecanismos que controlan el ciclo celular.

Ciclo celular

El ciclo celular es un conjunto de eventos que culmina con el crecimiento de la célula y su división. Para que ocurra una apropiada división y proliferación, toda célula eucariota debe seguir un correcto programa genético, el cual hace que ésta pase por diferentes fases y culmine en la división celular. La progresión del ciclo celular en las células eucariotas se asocia con la expresión de un conjunto de genes específicos [5-7]. Tales genes codifican para proteínas específicas que controlan la progresión del ciclo celular o funcionan en procesos metabólicos unidos a él. Para asegurar una apropiada división, las proteínas que están íntimamente involucradas en su regulación deben ser expresadas dentro de una ventana de tiempo en el ciclo celular [8].

En un ciclo celular la célula se divide en dos, y cada una de las células formadas cuenta con los elementos

1. Dirks P and Rutka JT. Current concepts in neuro-oncology: the cell cycle a review. *Neurosurgery* 1997;40:1000-15.

2. Dictor M, Ehrig M, Mertens F, Akervall J, Wenneberg J. Abnormal cell cycle regulation in malignancy. *Am. J. Clin. Pathol.* 1999;112:540-52.

3. Jiri B, Jiri L, and Jirina B. Perspectives: defects in cell cycle control and cancer. *J. Pathol.* 1999;187:95-9.

4. Hames BD and Glover DM. *Cell cycle control*. Edited by Hutchison C. Glover D.M. IRL Press New York; 1995.

5. Baserga R. Growth in size and cell DNA replication. *Exp. Cell Res.* 1984;151:1-5.

6. Rao PN, Johnson RT. Mammalian cell fusion: studies on the regulation of DNA synthesis and mitosis. *Nature* 1970;225.

7. Fotedar R and Fotedar A. Cell cycle control of DNA replication. *Progr. Cell Cycle Res.* 1995;1:73-89.

8. Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science.* 1989;246:629-33.

estructurales y funcionales que le permiten repetir el proceso de crecimiento y división. Sin embargo, para que esto suceda se necesita la replicación del genoma, la distribución equitativa de la masa celular y una segregación precisa de cromosomas.

La ejecución de esos eventos divide al ciclo celular en cuatro fases: crecimiento 1 (G1), síntesis (S), crecimiento 2 (G2) y mitosis (M). Una reproducción exacta de la célula requiere que esas fases y su secuencia estén coordinadas. La *fase G1*, llamada primera fase de crecimiento, se "inicia" con una célula que proviene de una división previa. Durante esta fase se capacita a la célula para crecer y producir todas las proteínas necesarias para la síntesis del ADN. La célula aumenta de tamaño y se sintetiza nuevo material citoplásmico, sobre todo proteínas y ARN.

La *fase S o de síntesis*, es el periodo en que tiene lugar la duplicación del ADN. Cuando termina, el núcleo contiene el doble de ADN y proteínas nucleares. Esto asegura que al dividirse cada una de las células tenga una copia completa de ADN.

En la *fase G2*, segunda fase de crecimiento, se sigue sintetizando ARN y proteínas, se incrementan las proteínas citoplasmáticas y organelos, por lo que la célula aumenta de tamaño y hay cambios visibles en la estructura celular que nos indican el principio de la mitosis o división celular. Al periodo de tiempo que transcurre entre dos mitosis, y que comprende los periodos G1, S y G2, se le denomina interfase. La *fase M o mitosis*, es cuando ocurre la división nuclear y celular, en este periodo los cromosomas se separan y ocurre la citocinesis.

Existe una quinta fase llamada G0, la cual recibe ese nombre porque queda fuera del ciclo. En esta fase la célula está "quiescente", es decir, no está en división, por lo que se encuentra fuera del ciclo celular.

Las células de mamífero proliferan solo cuando son estimuladas para hacerlo a través de señales intracelulares (factores de transcripción) y extracelulares (factores de crecimiento, hormonas o mitógenos). Si se priva de tales señales, el ciclo celular se detendrá en un punto de control G1 y la célula entrará en el estado G0. La célula puede permanecer en G0 por días, semanas, o incluso años antes que se divida otra vez. Una vez que recibe nuevamente señales, sobre todo extracelulares, son estimuladas a salir de G0 y entran a G1 para iniciar un nuevo ciclo de división. Una vez que la célula "regresa" a G1 continuará las fases sucesivas del ciclo celular en las siguientes 12-24 horas.

Clasificación de las células de acuerdo a su capacidad de proliferación

Las células del organismo se agrupan según su capacidad proliferativa y su relación con el ciclo celular en:

Células en división continua (también denominadas células lábiles)

Estas células entran continuamente al ciclo celular y permanecen proliferando a lo largo de toda la vida, sustituyendo a las células que mueren y manteniendo la homeostasis tisular. Los tejidos que tienen células lábiles son los epitelios de superficie como el de la

piel, tracto digestivo, respiratorio, genito-urinario, conductos excretores de todas las glándulas, y el tejido hematopoyético. En la mayor parte de estos tejidos, la proliferación celular proviene de una población de células madre que poseen una capacidad ilimitada de proliferación y cuya descendencia puede seguir diferentes vías de diferenciación.

Células quiescentes (también denominadas células estables)

Muestran normalmente un índice de replicación bajo. No obstante, pueden desarrollar una división rápida en respuesta a estímulos, por lo que son capaces de regenerar un determinado tejido. Son células que están en fase G0, pero por influencia de señales, sobre todo extracelulares, son estimuladas a regresar a la fase G1 e iniciar un ciclo celular. En este grupo se incluyen células de tejidos del hígado, riñón, páncreas, músculo liso y vascular, así como los fibroblastos. El mejor ejemplo de la capacidad de regeneración de las células estables es el potencial del hígado para regenerarse tras una hepatectomía parcial (resección quirúrgica del hígado) o después de una lesión ocasionada por agentes químicos y/o agentes virales.

Dentro de las células del tejido conectivo (fibroblastos, condrocitos, osteocitos, células endoteliales, del músculo liso, tejido linfático, y médula ósea), las células del músculo liso y las células endoteliales son quiescentes en los mamíferos adultos; sin embargo, todas proliferan en respuesta a una lesión.

Células indivisibles o células permanentes

Abandonan el ciclo celular y no pueden desarrollar o realizar una división mitótica en la vida post-natal. A este grupo pertenecen las células nerviosas y las de los músculos esquelético y cardíaco. Por ejemplo, neuronas que han sido lesionadas letalmente se pierden para siempre, y son sustituidas por la proliferación de los elementos de soporte del sistema nervioso central (SNC), las células gliales. La regeneración muscular en los mamíferos puede ser excelente si los extremos de las fibras musculares lesionadas se yuxtaponen estrechamente, pero esta situación rara vez puede conseguirse. En cuanto al músculo cardíaco, es acertado afirmar que sí tiene capacidad regenerativa; sin embargo, ésta es limitada y la mayoría de las grandes lesiones cardíacas llevan a la sustitución con tejido conectivo.

Papel del ciclo celular en la biología del desarrollo de los tumores cerebrales

En las dos últimas décadas la incidencia del cáncer se ha incrementado dramáticamente a nivel mundial. Numerosas anomalías cromosómicas y por consecuencia, genéticas han sido asociadas con los tumores. La gran mayoría de esas alteraciones han sido asociadas con genes y proteínas que forman parte de la maquinaria del ciclo celular.

La proliferación celular no controlada es la característica más común de los tumores. Su crecimiento excede inevitablemente, en parte, porque sus constituyentes celulares tienen un código genético alterado que los capacita a evadir los puntos de control y por tanto, a alterar el ciclo celular normal.

Tabla 1. Ciclinas, quinasas e inhibidores de quinasas y su relación con las fases del ciclo celular

| Ciclinas | Quinasas | Inhibidores | Fase que regulan |
|-----------------|--|------------------------------|---------------------|
| Ciclina A | Activa CDK2 y CDC2 | p21, p27 | S a M |
| Ciclina B1 | Activa CDC2 | p21, p27 | Progresión a M |
| Ciclina B2 | NC | NC | Progresión a M |
| Ciclina C | Activa CDK8 | p21, p27 | G1-NC |
| Ciclina D1 | Activa CDK4 | p15, p16, p18, p19, p21, p27 | G1 |
| Ciclina D2 y D3 | Activa CDK6 | p15, p16, p21, p27 | G1 |
| Ciclina E | Activa CDK2 | p21, p27 | Progresión a S |
| Ciclina F | NC | NC | G2 o progresión a M |
| Ciclina G1 y G2 | Reparación del DNA | NC | S-NC |
| Ciclina H | Activa CDK7, regulación de la transcripción y reparación del DNA | NC | S-NC |
| Ciclina I | NC | NC | NC |
| Ciclina K | Regulación de la transcripción y activación de CDKs | NC | NC |
| Ciclina T1 y T2 | Activa CDK9 | NC | NC |

Tomado de referencias 12, 17, 29, 39,40 y 45

ciclina-quinasa, con lo que aumenta su actividad y vida media. Además de la fosforilación, la presencia de inhibidores de quinasas puede regular también su actividad [20].

La progresión del ciclo es de suma importancia para la célula y el organismo, por lo que es altamente monitoreada y regulada. La presencia del complejo ciclina-quinasa desempeña un papel importante en esta regulación, y la actividad ciclina-quinasa es especialmente requerida en los llamados puntos de control en la transición de las diferentes fases del ciclo celular.

Ciclinas-quinasas de fase G1

Las ciclinas D y E forman complejos con quinasas (CDK4 y CDK6); la actividad de esos complejos es necesaria para la transición de la fase G1 a S [21, 22]. La actividad del complejo ciclina D/CDK es máxima en las etapas temprana e intermedia en G1. En células G0, los niveles de ciclina D son bajos; probablemente, es por esto que la célula se mantiene en esta fase. Se sabe que la ciclina D puede ser inducida por estímulos mitogénicos. La transducción de señales externas mitogénicas-antiproliferativas iniciadas, ya sea por la interacción de moléculas de adhesión con el receptor de tirosina quinasa (ejemplo: caderinas, integrinas) o por la interacción factor de crecimiento (TGF β1) receptor-segundos mensajeros, está asociada con una inducción de ciclina D [23-25] (Figura 2). El complejo ciclina D/CDK4,6 tiene como función fosforilar a la proteína pRb. Una vez que esto ocurre la célula pasa el punto de restricción, un paso esencial para la transición de G0 a G1 (ver párrafos adelante). Existen tres isoformas de ciclina D y cada una es expresada de manera distinta en diferentes tipos celulares.

Se ha encontrado una sobre-expresión de ciclina D en adenoma paratiroideo, linfomas y algunos carcinomas de células escamosas [26, 27]. Más del 50% de los cánceres de mama estudiados han mostrado una amplificación en la región cromosomal que codifica para ciclina D [28]. La sobre-expresión de ciclina D, algunas veces, ha correlacionado con un mal pronóstico [2, 3, 29].

Otro complejo que desempeña un papel crucial en la transición de fase G1-S es el complejo ciclina E/CDK2. La expresión de ciclina E ocurre en el núcleo,

en etapa temprana de G1 [30]. Este complejo actúa cooperativamente con el complejo ciclina D/CDK; la sobre-expresión de ciclina E acorta la fase G1. El complejo ciclina E/CDK2 fosforila la histona H1, lo que produce un reacomodo de la cromatina [31]. Se ha observado la sobre-expresión de ciclina E en adenocarcinoma de mama y sus niveles elevados han sido asociados con un mal pronóstico [32]. También se ha observado su sobre-expresión en los carcinomas de próstata, colon, páncreas y estómago [2, 3].

Ciclina de fase S

La actividad de ciclina A contribuye a la transición de G1-S, a la progresión de S y la transición G2-M [33]. Esta ciclina se asocia con dos quinasas: CDK2 y CDK1. El complejo ciclina A/CDK2 se requiere para la progresión de G1-S, mientras que el complejo ciclina A/CDK1 se requiere para la transición G2-M

- 18. Park SK, Kang SK, Lee DY, Kang MJ, Kin SH, Koh GY. Temporal expression of cyclins and cyclin-dependent kinases during renal development and compensatory growth. *Kidney Int.* 1997;51:762-69.
- 19. Piwnicka-Worms H. Reversible phosphorylation and mitotic control. *J. Lab. Clin. Med.* 1996;128:350-4.
- 20. Funk JO, Galloway DA. Inhibiting CDK inhibitors: new lessons from DNA tumor viruses. *Trend Biochem. Sci.* 1998;23:337-41.
- 21. Resnitzky D, Gossen M, Bujard H, Ree SI. Acceleration of the G1/S phase transition by expression of cyclins D1 an E with and inducible system. *Mol. Cell Biol.* 1994;14:1669-79.
- 22. Reed SI. Control of the G1/S transition. *Cancer Survey* 1997;29:7-23.

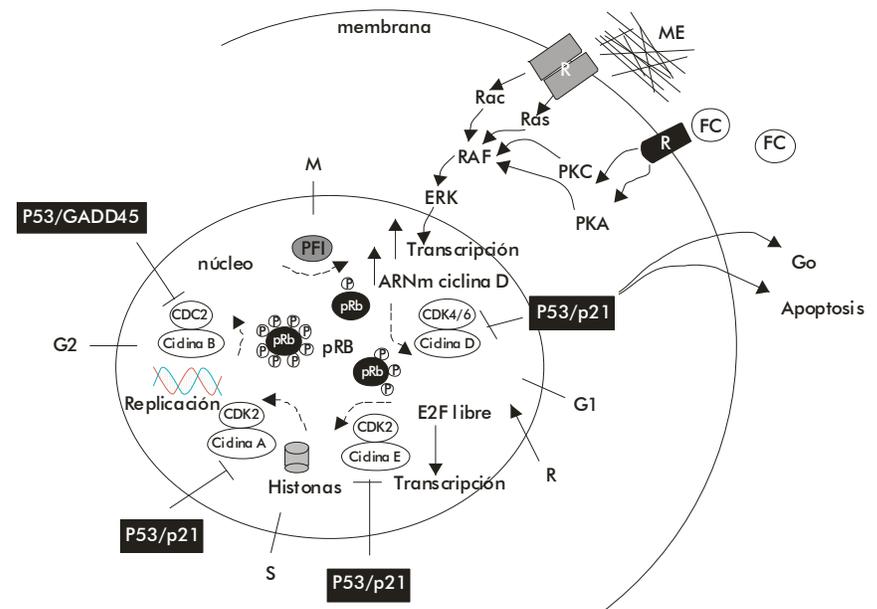


Figura 2. Modelo representativo de la regulación espacio-temporal de la progresión de un ciclo celular inducido por integrinas y/o factores de crecimiento (R-ME, R-FC).

[34]. Este complejo se considera un regulador positivo para la replicación del ADN (fase S) y un regulador negativo para factores de transcripción de la familia E2F. La ciclina A, también se ha encontrado alterada en los cánceres de adeno-carcinoma de mama, riñón y páncreas, con melanoma, mesotelioma, así como en las leucemias linfocítica aguda y mielocítica aguda [35].

Ciclina de fase G2-M

La transición G2-M y la progresión de M son influidas principalmente, por el complejo ciclina B/CDC2 y ciclina B/CDK2 [36, 37]. Existen tres isoformas de ciclina B, la ciclina B1 y B2 son citoplásmicas mientras que la ciclina B3 es nuclear. La expresión de la ciclina B también se ha encontrado alterada en algunos tipos de neoplasias [38]. La Tabla 2 muestra algunos de estos reguladores (ciclinas y quinasas) y su relación con tipos particulares de cáncer.

Inhibidores de quinasas dependientes de ciclinas

Recientemente se ha identificado una familia de reguladores del ciclo celular que actúan como inhibidores de CDKs. A los genes que codifican dichos inhibidores se les ha denominado inhibidores de quinasas dependientes de ciclina (CKIs) (Tabla 1) [39]. Los productos de los genes CKIs se unen a CDKs o al complejo ciclina-CDK, inhibiendo la actividad catalítica del complejo. La función biológica de las proteínas codificadas por CKIs, además del hecho de que sus genes se localizan en áreas de cromosomas alteradas en un número considerable de cánceres humanos, sugirió que podrían ser clasificados como genes supresores tumorales.

La inhibición de quinasas constituye un poderoso mecanismo de control del ciclo y proporciona un importante enlace con otras vías que participan en la regulación de la proliferación, diferenciación y senescencia [13, 40]. Existen dos familias de inhibidores: la Cip/Kip y la INK4 (p16). Los miembros de la familia Cip/Kip actúan sobre la mayoría de los complejos ciclina-quinasa, poseen una amplia especificidad de unión al complejo y, por tanto, de inhibición. Éstos también pueden actuar como adaptadores para promover el ensamblaje del complejo ciclina-CDK. Esta acción parece contradictoria, pero al favorecer la formación de un complejo, están inhibiendo además la integración de otros complejos para los cuales no tiene especificidad [40]. Se sabe que Cip/Kip favorece la formación de complejos ciclina-quinasa, actúa sobre una amplia variedad de ciclinas y quinasas, inhibiendo su actividad; mientras que INK4 impide la formación de complejos por parte de CDK4 y CDK6, es decir, impide la formación de la holoenzima y por tanto, su activación.

El primer miembro de la familia Cip/Kip es p21, cuyo gen es también denominado WAF1 o CIP1. Cuando se expresa p21 en forma excesiva, éste inactiva los complejos ciclina A/E CDK2 y ciclina D1/D2/D3-CDK4, impidiendo la transición de G1 a S [41]. Un hecho importante de la regulación de p21 es que el gen p21/WAF1 está bajo el control de p53. La síntesis de p21 se induce por p53 en respuesta a

Tabla 2. Factores de transcripción asociados al cáncer

| Factor | Localización | Tipo de cáncer asociado |
|--------|--------------|---|
| E2F1 | 20q11 | Lipoma, leucemia linfática aguda, leucemia mieloide aguda y crónica |
| E2F2 | 1p36 | Astrocitoma, leiomioma, rabdomiosarcoma, adenoma intestinal, adenocarcinoma (mama, riñón, intestino grueso, hígado, pulmón, páncreas, estómago, útero), carcinoma uroepitelial, melanoma, meningioma, neuroblastoma, liposarcoma, neurofibrosarcoma |
| E2F3 | 6q22 | Astrocitoma, adenocarcinoma (mama, riñón, colon, ovario, páncreas, estómago, útero), carcinoma de células grandes, carcinoma uroepitelial, melanoma, meningioma, mesotelioma, retinoblastoma, liposarcoma, osteosarcoma, rabdomiosarcoma |
| E2F4 | 16q22-23 | Astrocitoma, adenocarcinoma de colon, astrocitoma, adenocarcinoma (mama, ovario, páncreas), lipoma |
| E2F5 | 8q22 | Adenocarcinoma de ovario, cabeza y cuello |

Tomado de referencias 74,75 y 77

agentes que dañan el ADN. p21 es activado también por senescencia celular por vías dependientes e independientes de p53. Se ha postulado que existe una relación estrecha entre p53 y Rb en la fase G1 la cual es crucial para la progresión del ciclo en G1 [42]. Hasta el momento se han descrito alteraciones en el gen WAF1/CIP1 en adenocarcinoma de mama, linfoma no-Hodgkin, adenoma de útero, hematoma, leiomioma, lipoma, astrocitoma, hamartoma, y adenocarcinoma de ovario [2]. La proteína p27/Kip1 es otro miembro de esta familia, cuya función es regular negativamente el ciclo celular [43]. Mientras que p21 parece estar controlado por señales internas, se ha demostrado que p27 es un sustrato efector del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y sus mecanismos de regulación son negativo externos. p27 induce la detención del ciclo en la fase G1. Esta proteína posee cierta homología con p21, e inactiva los complejos ciclina E/CDK2, ciclina A/CDK2 y ciclina D/CDK4. Este inhibidor ha sido asociado con el tumor de células germinales de ovario y testículo, leucemias linfocítica aguda y mielocítica aguda, adenocarcinoma de mama, ovario y estómago [44].

Entre los miembros de la familia INK están p16 y p15. La proteína p16 es codificada por el gen p16/MTS1, también denominado INK4 ("inhibidor de CDK4"). p16 se une de forma específica a CDK4 y CDK6, inhibiendo indirectamente la fosforilación de Rb [45, 46]. La proteína p15 posee una gran homología con p16 y es codificada por el gen p15/MTS2/INK4B. Al igual que p16, p15 inactiva CDK4 y CDK6 formando complejos estables e inactivando la fosforilación de Rb [47]. La diferencia más importante entre p16 y p15 está en la regulación de su expresión. p15 responde, como p27, a ciertos estímulos externos mediados por TGF β . Tanto p16 como p15 aparecen frecuentemente alteradas en líneas celulares derivadas de múltiples tipos de tumores. La alteración más común es la ausencia total de los alelos funcionales de ambos genes. Parece ser lógico postular que dichos genes son supresores tumorales. Distintos grupos han demostrado que dichas aberraciones genéticas ocurren con frecuencias variables en un número importante de tumores primarios humanos, entre ellos: los adenocarcinomas de mama, riñón, pulmón, ovario y páncreas; astrocitoma, leucemias linfocítica y mielocítica aguda, condrosarcoma, y neurofibrosarcoma; carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, y pulmón; melanoma y mesotelioma (2).

23. Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Bartek J. Cyclin D3: requirements for G1/S transition and high abundance in quiescent tissue suggest a dual role in proliferation and differentiation. *Oncogene*. 1998;17:1027-37.

24. Grafstrom RH, Pan W, Hoess RH. Defining the substrate specificity of cdk4 kinase? Cyclin D complex. *Carcinogenesis* 1999;20:193-8.

25. Huang S, Chen CS, Ingber DE. Control of cyclin D1, P27Kip1 and cell cycle progression in human capillary endothelial cells by shape and cytoskeleton tension. *Mol. Biol. Cell*. 1998;9:3179-93.

26. Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. Cyclin D-dependent kinases, INK4 inhibitors and cancer. *Biochem. Biophys. Acta*. 2002;1602(1):73-87

27. Palazzo JP. Cyclin-dependent kinase inhibitors: a novel class of prognostic indicators. *Hum. Pathol*. 2001 Aug; 32(8):769-70.

28. Sutherland RL, Musgrove EA. Cyclin D1 and mammary carcinoma: new insights from transgenic mouse models. *Breast Cancer Res*. 2002;4(1):14-7.

29. Michaelis RJ, Van de Brekel M, Balm F. Defects in G1-S cell cycle control in head and neck cancer: a review. *Head Neck*. 2002;24(7):694-704

30. Ohtsubo M, Theodoras AM, Schumacher J, Roberts MJ, Pagano M. Human cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. *Mol. Cell Biol*. 1995;15:2612-24.

31. Even M. Where the cell cycle and histones meet. *Genes and Dev*. 2000; 14:2265-70.

32. Porter PL, malone KE, Heagerty PJ, Alexander GM, Gatti LA, Firpo EJ. Expression of cell cycle regulators p27Kip1 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival in young breast cancer patients. *Nat. Med*. 1997;3:222-5.

33. Pagano M, Pepperkok R, Verde F, Ansirge W, Draetta G. Cyclin A is required at two points in the human cell cycle. *EMBO J*. 1992;11:961-71.

34. Blanchard JM. Cyclin A2 transcriptional regulation: modulation of cell cycle control at the G1/S transition by peripheral cues. *Biochem. Pharmacol*. 2000;60(8):1179-84

35. Yam CH, Fung TK, Poon RY. Cyclin A in cell cycle control and cancer. *Cell Mol. Life Sci*. 2002;59(8):1317-26.

Más recientemente se han caracterizado los genes p18 y p19, de la familia INK. Estos genes codifican para las proteínas que forman complejos diméricos estables con CDK4 y CDK6, inhibiendo así la actividad quinasa de los complejos ciclina D/CDK4 y ciclina D/CDK6, y por lo tanto, la fosforilación de Rb por lo que detienen el ciclo en fase G1 [48, 49]. Mutaciones de p18 han sido asociadas con una gran variedad de tumores, entre ellos: astrocitoma; leiomioma de útero; rhabdomyosarcoma; adenoma de colon; leucemias linfocítica y mielocítica aguda; adenocarcinoma de mama, riñón, colon, hígado, pulmón, ovario, estómago y útero; carcinoma de células grandes, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, y pulmón; tumores de células germinales de ovario y testículo; melanoma; neuroblastoma, liposarcoma y neurofibrosarcoma [2]. Por otro lado, p19 ha sido asociada con leucemias linfocítica y mielocítica aguda; melanoma, meningioma, tumor mucoepidermoide, y adenocarcinoma de colon [3].

Puntos de control específicos en el ciclo celular

La comprensión de los puntos de control a nivel molecular, su alteración y su relación con el cáncer es, en este momento, un tópico de gran relevancia en la investigación, debido a que está permitiendo diseñar estrategias terapéuticas más eficaces para el tratamiento del cáncer.

Normalmente, el ciclo celular procede sin interrupciones, bajo el monitoreo, control y regulación de los mecanismos ya mencionados. Las células normales tienen la capacidad de interrumpir el ciclo celular, cuando ocurre un daño celular y se afecta la maquinaria bioquímica o la información genética involucrada en el ciclo. Esta interrupción, es comúnmente denominada detención de la proliferación; y puede ocurrir en las fases G1, S y G2. La detención del avance del ciclo, tiene la finalidad de brindar el tiempo necesario para reparar los daños. Una vez que los daños han sido reparados, el ciclo continúa hasta la división de la célula. Cuando ésta no es capaz de reparar los daños, se activan los mecanismos de muerte celular programados para impedir que se produzcan células hijas con alteraciones en la información genética. En caso contrario, si la célula no muere y queda con un ADN alterado entonces continúa hacia la transformación maligna.

¿Cómo sabe la célula que una fase específica del ciclo se ha completado exitosa y correctamente, y que puede continuar? ¿Qué hace que la célula se detenga, transitoriamente, durante el ciclo celular en respuesta a agentes que causan daño, particularmente al ADN? Existen sitios (moléculas), que reciben el nombre de *puntos de control o verificación* cuya función es monitorear la terminación exitosa de cada fase del ciclo celular. Estos puntos de control son especialmente sensibles a alteraciones del ADN [50, 51] y operan en todas las fases. El mecanismo mediante el cual realizan su función, frecuentemente involucra la activación o inactivación de un complejo ciclina-quinasa [52, 53].

Los puntos de control están integrados por una variedad de moléculas, encargadas de que las fases y eventos del ciclo celular se lleven a cabo en un orden

específico. El sistema de control "determina" si la célula reúne las condiciones necesarias y hasta apropiadas. Por ejemplo, permite que la mitosis se lleve a cabo solamente después de que todo el ADN se ha replicado correctamente, o que la célula se divida en dos, solo si la mitosis se ha completado. Si la terminación de uno de los pasos se retarda, el sistema de control retarda la activación del siguiente paso, de manera que la secuencia se mantiene. El sistema de control asegura esta hazaña a través de la acción de "frenos" moleculares que pueden interrumpir el ciclo en puntos de control específicos, permitiendo a la célula monitorear su estado interno y su ambiente, antes de continuar [54]. Las señales de estos sitios de verificación reportan el estado de la célula.

Punto de control de G1

Cuando se estimula una célula para entrar en proliferación por factores externos, tales como hormonas, factores de crecimiento, etc., se inicia una serie de eventos moleculares que la llevarán a pasar el *punto de restricción* (R). Este punto es "la aduana" de la fase G1; una vez que se llega a él, si se cumple con todos los "requisitos necesarios" se traspasará, con lo cual la célula podrá progresar hacia G1 tardío y a las siguientes fases del ciclo, para culminar con su división [55]. El punto de restricción se alcanzará siempre que los niveles de ciclina D estén elevados. Se sabe que la ausencia o supresión de factores que inducen la proliferación mantiene reducidos niveles de ciclina D y esto es lo que evita que se llegue al punto de restricción. En tales circunstancias la célula se mantendrá en G1 temprano y/o saldrá del ciclo hacia un estado G0. Por el contrario, si ya se ha rebasado el punto de restricción, aún cuando se supriman los estímulos extracelulares de proliferación, la progresión del ciclo celular continuará y procederá hasta su culminación [56]. Se podría decir que el punto de restricción es el primer punto de control que puede detener la progresión de la célula a través del ciclo celular; una vez que se traspasa no hay vuelta atrás.

Las moléculas que participan en el punto de control G1 son: los complejos ciclina D/CDK4 o ciclina D/CDK6, los inhibidores de quinasas p21 y p16 [57-59] y las proteínas pRb y p53 [60, 61].

En la actualidad, se sabe que el punto de restricción se encuentra ausente en muchos tipos de cáncer, de ahí que una célula tumoral pueda proliferar activamente independientemente de la presencia o no de factores de crecimiento (tumores no dependientes de hormonas).

Punto de control de la fase S

En la actualidad poco se sabe acerca de la función del punto de control de fase S. Lo que se ha observado es que tras la exposición a agentes que dañan el ADN, como la radiación ionizante, las células de mamíferos muestran una inhibición de la síntesis de ADN. Se ha encontrado una supresión de la actividad del complejo ciclina A/CDK2 en células tratadas con radiación ionizante, por lo que estas moléculas se han considerado como parte de la maquinaria del punto de control de la fase S [62, 63]. Dado que p21 es capaz de inhibir al complejo

36. Ito M. Factors controlling cyclin B expression. *Plant Mol. Biol.* 2000;43(5-6):677-90.

37. Jin P, Hardy S, Morgan DO. Nuclear localization of cyclin B1 controls mitotic entry after DNA damage. *J. cell Biol.* 1998; 141:875-85.

38. Sherr CJ. Cell cycle control and cancer. *Harvey Lect.* 2000-2001;96:73-92.

39. Navel EG. CDKs and CKIs: molecular targets for tissue remodelling. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2002;1(8):587-98.

40. Obaya AJ, Sedivy JM. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol. Life Sci.* 2002;59(1):126-42

41. Perkins ND. Not just a CDK inhibitor: regulation of transcription by p21(WAF1/CIP1/SDI1). *Cell Cycle* 2002;1(1):39-41.

42. Barley RDC, Enns L, Peterson MC, Mirzayans R. Aberrant p21-dependent growth arrest as the possible mechanism of abnormal resistance to ultraviolet light cytotoxicity in Li-Fraumeni Syndrome fibroblast strains heterozygous for TP53 mutations. *Oncogene* 1998;17:533-43.

43. Servant MJ, Coulombe P, Turgeon B, Meloche S. Differential regulation of p27 expression by mitogenic and hypertrophic factors: involvement of transcriptional and posttranscriptional mechanisms. *J. Cell Biol.* 2000;148:543-56.

44. Lloyd RV, Erickson LA, Jin L, Kulig E, Qian X, Chevillat JC, Scheithauer BW. P27kip1: a multifunctional cyclin-dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancer. *Am. J. Pathol.* 1999;154:313-23.

45. Carnero A, Hannon GJ. The INK family of CDK inhibitors. Berlin: Springer, 1998.

46. Klangby U, Okan I, Magnusson KP, Wendland M, Lind P, Wiman KG. P16/INK4a and p15/INK4b gene methylation and absence of p16/INK4a mRNA and protein expression in Burkitt's Lymphoma. *Blood* 1998;91:1680-7

47. Huschtscha LI, Reddel RR. P16INK4a and control of cellular proliferative life span. *Carcinogenesis* 1999;20:921-6.

48. Franklin DS, Godfrey VL, Lee H, Kovalev GI, Schoonhoven R, Chen Kiang S, Su L, Xiong Y. CDK inhibitors p18INK4c and p27Kip1 mediate two separate pathways to collaboratively suppress pituitary tumorigenesis. *Genes & Dev.* 1998;12:2899-911.

49. Radfar A, Unnikrishnan I, Lee HW, DePinho RA, Rosenberg N. p19Arf induces p53-dependent apoptosis during Abelson virus-mediated pre B cell transformation. *Proc. natl. Ac. Sci. USA.* 1998;95:13194-9.

50. Hartwell LH, Weinert TA. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science* 1989;246:629-34.

51. Mantel Ch, Braun SE, Reid S, Henegariu O, Liu L, Hangoc G, Broxmeyer HE. P21 deficiency causes deformed nuclear architecture, centriole overduplication, polyploidy, and relaxed microtubule damage checkpoints in human hema-topoietic cells. *Blood* 1999;93:1390-8.

52. Jonson DG, Walter CL. Cyclins and Cell cycle checkpoints. *Ann. Rev. Pharmacol.* 1999;39:295-312.

ciclina A/CDK2, es posible que forme parte de este punto de control, el cual es necesario para la transición de la Fase S a M.

Punto de control de la fase G2

En el punto de control G2 participan el complejo ciclina B/CDK2 y su inhibidor p34 en su estado hiperfosforilado [64]. Un factor importante en este punto de control es la regulación de la localización subcelular del complejo ciclina B/CDK2 el cual está presente normalmente, en citoplasma y posteriormente pasa a núcleo, conforme la célula progresa de la fase G2 a M. Se ha sugerido que su movilización depende del nivel de fosforilación de p34 [65]. Los complejos ciclina B son retenidos en el citoplasma en respuesta a radiación ionizante, con lo cual se detiene el ciclo celular en G2, sugiriendo que la localización diferencial puede formar parte de las funciones del punto de control G2 [66].

Punto de control del huso mitótico

La mayoría de las células tienen un punto de control del huso mitótico que detiene la evolución del ciclo celular en la mitosis hasta que todos los cromosomas están unidos apropiadamente al huso [68, 69]. Agentes que dañan el ADN, además de alterar el aparato mitótico, pueden activar el mecanismo de sobrevivencia del punto de control del huso mitótico.

La integridad de los diferentes puntos de control se considera clave en el mantenimiento de la estabilidad genética, ya que una de las causas más frecuentes de su activación es, precisamente, la alteración del ADN. Las alteraciones estructurales o funcionales que impiden el funcionamiento de los "frenos" o controles del ciclo, pueden llevar a la progresión de ciclos celulares alterados y, por tanto, a la oncogénesis.

Las alteraciones más comunes en el cáncer son la expresión aberrante de reguladores positivos (ciclinas), o la pérdida de funciones reguladoras negativas (inhibidores de CDKs); algunas de estas alteraciones se han asociado estrechamente, con algún tipo particular de cáncer (ver Tabla 1).

Control del ciclo celular a nivel de la transcripción

Datos experimentales generados en los pasados años han enfatizado el papel esencial de los factores de transcripción en la regulación de la proliferación celular. Ahora es ampliamente aceptado que un gran número de genes que regulan la proliferación celular son controlados a nivel transcripcional durante etapas específicas del ciclo por acción de activadores y represores de la transcripción [70, 71].

Una de las familias de factores de transcripción más estudiada en la última década es E2F, la cual ha emergido como un componente central de esta maquinaria reguladora [72, 73]. Aunque ya se ha identificado su participación en la regulación del ciclo celular, muchos laboratorios están aún interesados en revelar los mecanismos que controlan su actividad y a su vez, cómo éste regula el ciclo celular, debido a que en la mayoría de los cánceres se ha encontrado que su actividad está alterada [74, 75] (Tabla 2).

E2F posee sitios de unión a promotores de muchos genes involucrados en la regulación del ciclo celular.

Entre los genes diana que son regulados por E2F están aquellos cuyos productos son esenciales para la replicación del ADN (Por ejemplo, dihidrofolato reductasa, ADN polimerasa alfa, timidina cinasa, timidilato sintetasa, y CDC6) y el control del ciclo celular (ciclina E, ciclina A, CDC2, p107, pRb, c-Myc, N-Myc, B-Myb, E2F-1, E2F-2) [76, 77]. La mayoría de esos genes son activados previo a la fase S.

Se han descrito múltiples mecanismos implicados en el control de la actividad de E2F durante la proliferación celular, entre ellos la proteólisis y la sublocalización celular son los más importantes [78]. Un escenario tentativo para células que están en proliferación y cuya activación de E2F está limitada a un periodo de tiempo muy reducido en G1-S sería el siguiente: En etapa G1 temprana, la actividad E2F está inhibida por estar formando complejos con pRb. Una vez que pRb es fosforilado por el complejo ciclina D/CDK4/6 se llega al punto de restricción. Conforme la célula progresa en G1, E2F se libera y se relocaliza del núcleo al citoplasma, y los niveles de E2F-1 y E2F-3 aumentan. Como consecuencia, empezarán a ejercer su función como factor de transcripción. El efecto neto de esos cambios es el aumento de E2F "libre" en G1 tardío ya que la fosforilación de pRb y el paquete de proteínas inhiben su asociación; sin embargo, la unión de E2F al ADN aumenta. En fase S, la actividad de E2F se regula por la reducción de su unión al ADN inducido por fosforilación y por su degradación. En G2-M, E2F-4 otra vez se relocaliza en el núcleo y reprime la transcripción a través de su asociación con pRb. En este tiempo, la degradación de E2F-1, E2F-2, y E2F-3 puede estar incrementada por la fosforilación que inhibe su interacción con el paquete de proteínas. Cuando se induce la célula a salir del ciclo celular, p130 se incrementa y la transcripción dependiente de E2F se reprime por la formación del complejo E2F-4/5/p130 [79].

La familia de factores de transcripción E2F son tanto activadores como represores de la transcripción, y varios resultados sugieren que los integrantes de la familia E2F tienen distintas funciones en la regulación de la progresión del ciclo celular: E2F-4 y E2F-5 actúan principalmente como represores de transcripción en etapas tempranas del ciclo celular, mientras que E2F-1, E2F-2 y E2F-3 actúan como represores y activadores de la transcripción en etapas tardías del ciclo. Debido a la importancia que poseen las moléculas E2F en la regulación del ciclo celular ya es ampliamente aceptada su estrecha asociación con el cáncer.

Genes supresores tumorales y su influencia en el ciclo celular

Dentro de la familia de genes supresores tumorales, pRb y p53 desempeñan un papel importante en la regulación del ciclo celular. La proteína supresora tumoral retinoblastoma (pRb) activa a moléculas conocidas como vía Rb [80, 81]. Esta vía opera estratégicamente en la fase G1, específicamente en el punto de restricción (Figura 3); pero además, participa en las otras fases del ciclo celular, e interviene en la toma de decisiones para llevar a la célula hacia la progresión del ciclo, detención temporal, quiescencia, diferenciación, senescencia o muerte celular. Esta vía representa un blanco oncogénico

53. Murray AW. Creative blocks: cell cycle checkpoint and feedback controls. *Nature* 1992;359:599-604.

54. Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Cell cycle control, checkpoint mechanisms, and genotoxic stress. *Env. Health Perspectives* 1999;107:5-24.

55. Potter CJ, Xu T. Mechanisms of size control. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2000; 11:279-86.

56. Blagosklomny MV, Pardee AB. The restriction point of the cell cycle. *Cell Cycle* 2002;2:103-10.

57. Elledge SJ. Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. *Science* 1996;274:1664-74.

58. Shapiro GI, Edwards CD, Ewen ME, Rollings BJ. p16 INK4A participates in a G1 arrest checkpoint in response to DNA damage. *Mol. Cell Biol.* 1998;18:378-87.

59. Dotto GP. p21(WAF1/Cip1): more than a break to the cell cycle? *Biochem Biophys. Acta* 2000;1471(1):M43-56.

60. Sandy P, Gostissa M, Fogal V, Cecco L, Szalay K, Rooney RJ, Schneider C, Del Sal G. p53 is involved in the p120E4F-mediated growth arrest. *Oncogene* 2000;19:188-99.

61. Harrington E, Jacqueline LB, Ed Harlow, Dyson N. pRb plays an essential role in cell cycle arrest induced by DNA damage. *Proc. natl. Ac. Sci. USA.* 1998;95:11945-50.

62. Yam CH, Fung TK, Poon RY. Cyclin A in cell cycle control and cancer. *Cell Mol. Life Sci.* 2002;59(8):1317-26

63. Blanchard JM. Cyclin A2 transcriptional regulation: modulation of cell cycle control at the G1/S transition by peripheral cues. *Biochem. Pharmacol.* 2000;60(8):1179-84.

64. Smits VA, Medema RH. Checking out the G(2)/M transition. *Biochem. Biophys. Acta* 2001;1519(1-2):1-12.

65. Cahan TA, Hwang PM, Hemeking H, Kinzler KW, Vogelstein B. Cooperative effects of genes controlling the G2/M checkpoint. *Genes & Dev.* 2000;14:1584-8.

66. Toyoshima F, Moriguchi T, Wada A, Fukuda M, Nishida E. Nuclear export of cyclin B1 and its possible role in the DNA damage-induced G2-checkpoint. *EMBO J.* 1998;17:2728-35.

67. Jin P, Ardi S, Morgan DO. Nuclear localization of cyclin B1 controls mitotic entry after DNA damage. *J. Cell Biol.* 1998;141:875-85.

68. Smiths VA, Medema RH. Checking out the G(2)/M transition. *Biochem. Biophys. Acta* 2001;1519(1-2):1-12.

69. Pearce AK, Humphrey TC. Integrating stress-response and cell-cycle checkpoint pathways. *Trends Cell Biol* 2000;11(10): 426-33

70. Sánchez I, Dynlacht BD. Transcriptional control of the cell cycle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996;8:318-24.

71. Lania L, Majello B, Napolitano G. Transcriptional control by cell cycle regulators: a review. *J. Cell Physiol.* 1999;179:134-41.

72. Helin K. Regulation of cell proliferation by the E2F transcription factors. *Curr. Opin. Gen. & Dev.* 1998;8:28-35.

complejo; evidencia de esto es que en la mayoría de los cánceres humanos está inactivada [82, 83].

La vía Rb es un punto de convergencia, posiblemente, para todas las cascadas de señalización mitogénicas que ocurren corriente arriba, disparada por citoquinas, factores de crecimiento u hormonas. Como ha sido señalado previamente, las cascadas de señalización parecen operar al estimular el ensamble de una o más de las ciclinas D con sus CDKs, y por inhibir uno o más de los inhibidores de CDKs. La posición estratégica hace de esta vía un blanco de aberraciones promotoras del cáncer.

Consistente con su papel positivo versus negativo en el control del ciclo celular, los componentes de la vía Rb son considerados como protooncogenes (ciclina D, CDK4/6, ciclina E) o genes supresores tumorales (p15, p16, p27, y p57, y pRb) y cada uno de ellos puede alterar la vía por la presencia de alguna mutación [84, 85]. Ejemplos típicos donde aparece alterada la vía Rb en algunos cánceres: inactivación y/o pérdida de Rb en retinoblastoma y cáncer pulmonar de células pequeñas, pérdida de p16 en melanomas, leucemias de células T y carcinoma pancreático; y superexpresión de ciclina D1 en linfomas y algunos tipos de carcinomas [2, 3]. Cuando la vía Rb está alterada en una célula tumoral quiere decir que varios componentes están alterados colectivamente y esto puede conferirle mayor agresividad al tumor y, por consiguiente, mal pronóstico. Algunos ejemplos de este tipo de tumor son los carcinomas de cabeza, cuello, páncreas, pulmón, mama, así como los melanomas. En resumen, la inactivación de la vía RB puede considerarse un paso clave en la oncogénesis.

Otro de los genes supresores tumorales ampliamente estudiados es p53. La proteína p53 es llamada el "guardián" del genoma, se localiza en el núcleo y es una proteína lábil e inestable. p53 parece estar asociada con múltiples funciones biológicas, entre ellas el crecimiento de la célula, la progresión o detención del ciclo celular, senescencia y apoptosis [86-88] (Figura 4). En su forma no activa, es marcada para proteólisis mediante la unión a mdm2. Se sabe que la fosforilación del complejo ciclina-D/CDK evita la unión de p53 y su marcaje con mdm2, además de que la estabiliza e incrementa su vida media [89].

En situaciones de estrés se induce p53 y se detiene su degradación, por lo que su concentración incrementa rápidamente. Esta proteína actúa como un censor y se induce por eventos no genotóxicos, tales como: depleción de factores de crecimiento, falta de ribonucleótidos, por algunas citoquinas; o bien por eventos genotóxicos que producen daño al ADN tales como: rayos X, radiación gamma, luz ultravioleta y estrés oxidativo [90, 91].

Una vez activado, p53 se une al ADN en sitios específicos, actuando como factor de transcripción. Así, p53 incrementa la transcripción de CKI p21^{CIP1}, el cual inhibe los complejos ciclina A y D con sus respectivos CDKs, bloquea la actividad de CDKs evitando la hiperfosforilación de pRb y por tanto, la activación de genes de fase S. La unión de p53 al gen 14-3-3p y GADD45 secuestra la forma fosforilada de cdc25c, una fosfatasa del complejo ciclinaB/Cdc2 que es esencial para la transición G2/M. El otro

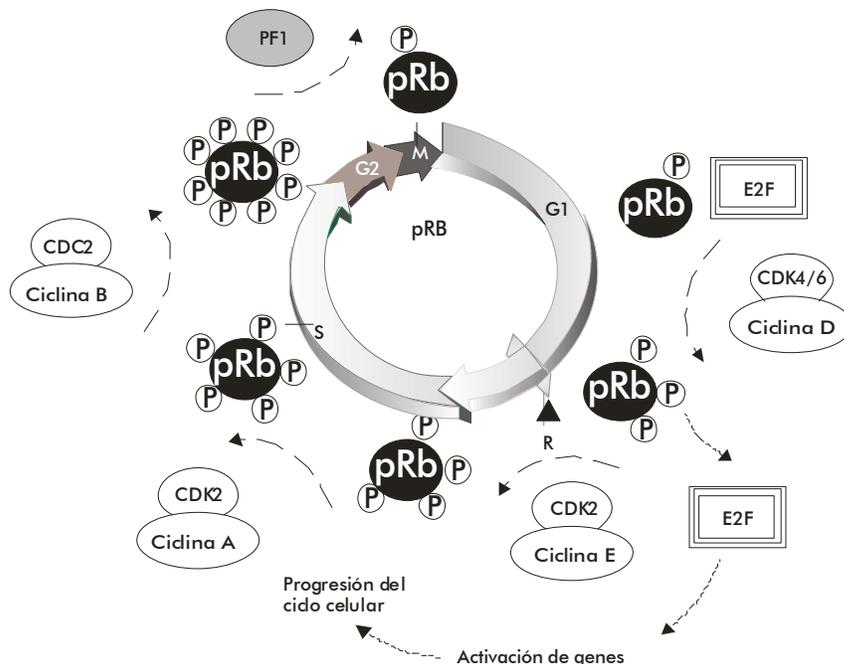


Figura 3. Interacción pRb, ciclinas, quinasas y E2F en las diferentes fases del ciclo. La fosforilación de pRb por el complejo ciclinaD/CDK4/6 libera los factores de transcripción (E2F) para activar la transcripción de genes y permitir la progresión del ciclo celular. pRb sufre sucesivas fosforilaciones a lo largo del ciclo celular.

mecanismo es a través de GADD45 el cual altera el complejo ciclina B/Cdc2. Probablemente, esta sea una vía de interacción directa con el Cdc2. Ambas proteínas son esenciales para la detención sostenida en G2 después del daño al ADN [60, 92, 93].

Si existe un daño en el ADN se activa p53 y se detiene el ciclo para que la célula pueda reparar el daño, o se activa el programa de muerte celular para prevenir que se convierta en una célula tumoral. ¿Qué determina la elección entre esas dos respuestas celulares? Varios factores pueden influir en esta elección, entre ellos: el tipo de célula, la carga oncogénica celular, el estímulo extracelular y la intensidad del estrés condicionante, el nivel de expresión de p53 y su interacción con proteínas específicas. Todos estos factores influyen en la actividad de p53 y determinan la respuesta celular. p53 es uno de los genes que más frecuentemente se ven alterados en los diversos cánceres humanos; se estima que alrededor del 60% de todos los cánceres tienen alterado este gen [2, 3]. La mayoría de esas mutaciones se han encontrado en la región central de la base de p53 que contiene el dominio de unión al ADN. Si no hay actividad de p53, las células pierden este punto de control y pueden continuar la transformación a una célula tumoral [94].

Vías de señalización mediadas por Rho GTPasas para la regulación del ciclo celular

Las Rho GTPasas, son una familia de enzimas que regulan varias vías de señalización, que pueden ser activadas por gran variedad de receptores membranales [95]. Esta familia tiene varias funciones, entre ellas, el control del ensamble y actividad del

73. Black AR, Azizkhan-Clifford J. Regulation of E2F: a family of transcription factors involved in proliferation control. *Gene* 1999;237:281-302.

74. Fan J, Bertino JR. Functional roles of E2F in cell cycle regulation. *Oncogene* 1997;14:6530-6.

75. Nebert DW. Transcription factors and cancer an overview. *Toxicology* 2002; 181-182:131-41.

76. Yamasaki LT, Jacks R, Bronson E, Goillot E, Harlow E, Dyson NJ. Tumor induction and tissue atrophy in mice lacking E2F-1. *Cell* 1996;85:537-48.

77. Muller R. Transcriptional regulation during the mammalian cell cycle. *Trends Genet.* 1995;11:173-8.

78. Johnson DG, Schwartz JK, Cress WD, Nevins JR. Expression of transcription factor E2F1 induces quiescent cells to enter S phase. *Nature* 1993;365:349-52.

79. He S, Cook BL, Deverman BE, Weihe U, Zhang F, Prachand V, Zheng J, Weintraub SJ. E2F is required to prevent inappropriate S-phase entry of mammalian cells. *Mol. cell Biol.* 2000;20:363-71.

80. Bartek J, Bartkova J, Lukas J. The retinoblastoma protein pathway and the restriction point. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1996;8:805-14.

81. Lindeman GJ, Gaubatz S, Livingston DM, Ginsberg D. The subcellular localization of E2F family members induces S phase entry and overcomes p16INK4a mediated growth suppression. *Mol. Cell Biol.* 1996;16:1047-57.

82. Nam Nh, Parang K. Current target for anticancer drugs discovery. *Curr. Drug therapy* 2003;4:159-79.

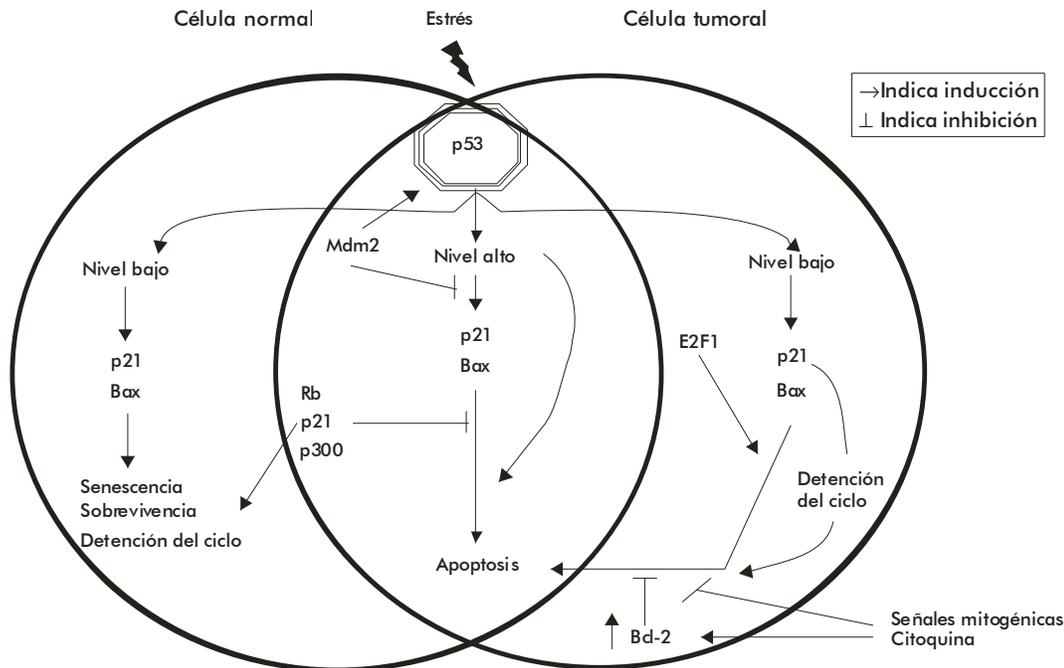


Figura 4. Eventos que ocurren en una célula normal y tumoral, respectivamente, en respuesta a la activación de p53.

citoesqueleto, producción de oxidantes por leucocitos, activación de cascadas de quinasas y fosfolipasas, y las vías de señalización que controlan el crecimiento celular [96, 97] (Figura 2). Este espectro de actividades reguladoras hace a las Rho GTPasas elementos claves en procesos como la proliferación celular, el crecimiento tumoral y la metástasis [98].

Las Rho GTPasas son miembros de la superfamilia Ras. Han sido identificadas diez Rho GTPasas diferentes en mamíferos [99]. Las más caracterizadas son Rho, Rac, Ras y Cdc42. Cada una actúa como interruptor molecular, oscilando entre un estado activo unido a GTP y un estado inactivo unido a GDP. Cuando están unidos a GTP, pueden interactuar con blancos corrientes abajo o con moléculas efectoras para producir una respuesta biológica.

Se ha demostrado, en los últimos años, que las vías de señalización de las GTPasas desempeñan un papel importante en el control del ciclo celular [100]. Hallazgos previos mostraron que se requiere la participación de múltiples vías de señalización para que se exprese la ciclina D y se active el ciclo celular, entre las cuales participan las Rho GTPasas, quinasas activadas por mitógenos y fosfatidil inositol trifosfato (IP3) [101, 102]. En células con niveles altos de ARNm de ciclina D, la regulación de la estabilidad y translocación de esta ciclina depende de la activación de una cinasa por IP3.

La regulación de la actividad de los inhibidores de las quinasas dependientes de ciclinas (CKIs) por Rho GTPasas también ha sido demostrada [103]. En células quiescentes privadas de suero, se ha observado que los niveles de CKIs dependientes de ciclina-p27Kip1 son altos a consecuencia de la estimulación por factores de crecimiento y transducción de señales vía Rho GTPasas. La degradación de p27 es un punto de

control importante para la entrada al ciclo celular y puede ser un regulador clave de la actividad del complejo ciclina E/CDK2.

Recientemente, la familia Rho ha recibido mayor atención por su participación en el fenotipo invasivo tumoral [104, 105]. Evidencias experimentales han relacionado a las Rho GTPasas con la señalización de la promoción a la transformación maligna. El análisis genético de cánceres humanos ha revelado varios ejemplos de alteraciones directas en los genes que codifican para los reguladores de la familia Rho, entre los más importantes, ras. Algunos cánceres en los cuales se han encontrado alteraciones de las Rho GTPasas son: cáncer de próstata, tracto urinario, mama, ovario, colorrectal, gástrico, pancreático, glioblastoma y melanoma, entre otros.

Perspectivas: defectos en el control del ciclo celular y cáncer

En las secciones precedentes hemos señalado que la mayoría de los cánceres tienen alguna anomalía en los mecanismos que regulan el ciclo celular. Los conocimientos y la comprensión del ciclo celular, especialmente en la célula maligna, están permitiendo el diseño y desarrollo de técnicas de diagnóstico más temprano, identificación de factores de riesgo, mecanismos de prevención y una mejor caracterización y evaluación del pronóstico del cáncer. Con ayuda de estos procedimientos se está estableciendo el perfil del tumor para introducir dianas moleculares para el diseño de nuevas estrategias en el tratamiento individualizado del cáncer.

Sin embargo, aún cuando se han dado grandes avances en el campo de la investigación básica oncológica, los beneficios reales para la clínica han sido moderados. Esto es, en parte, debido a que en

83. Stewart ZA, Westfall MD, Pietenpol JA. Cell cycle dysregulation and anticancer therapy. *Trends Pharmacol. Sci.* 2003; 24:139-45.

84. Helt AM, Galloway DA. Mechanism by which DNA tumor virus oncoprotein target the RB family of pocket proteins. *Carcinogenesis* 2003;24:159-69.

85. Cau BN and Wang JY. Coordinated regulation of life and death by Rb. *Natl. Rev. cancer.* 2003;3:130-8.

86. Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J. Pathol.* 1999;187:112-26.

87. Scheiber M, Kolbus A, Piu F, Szabowski A, Mohle-Steinlein U, Tian J, Karin M, Angel P, Wagner E.F. Control cell cycle progression by c-jun is p53 dependent. *Genes & dev.* 1999;13:607-19.

88. Collavin L, Lazarevic D, Utrera R, Marzino S, Monte M, Schneider C. wt p53 dependent expression of a membrane-associated isoform of adenilate kinase. *Oncogene* 1999; 18: 5879-88.

89. Chene P. Inhibiting the p53-mdm2 interaction: an important target for cancer therapy. *Nat. rev. Cancer.* 2003; 3: 102-9.

90. Kapoor M, Hamm R, Yan W, Taya Y, Lozano G. Cooperative phosphorylation at multiple sites is required to activate p53 in response to uv radiation. *Oncogene* 2000; 19: 358-64.

91. Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K, Wahl GM. DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long term induction of Cip1 in normal human fibroblast. *Genes Dev.* 1994; 8: 2540-51.

biomedicina, existe un periodo de latencia entre los descubrimientos primarios y su aplicación práctica, ya que para la aprobación de nuevas opciones terapéuticas y métodos de diagnóstico se deben seguir procedimientos largos para cumplir las reglas éticas y de regulación. No obstante, el avance científico traerá,

en pocos años, un alud de conocimientos con potenciales aplicaciones en medicina. No hay duda que la victoria decisiva en la batalla contra el cáncer podrá alcanzarse mientras contemos con las herramientas y los conocimientos disponibles para hacerlo.

92. Mantel Ch, Braun SE, Reid S, Henegariou O, Liu L, Hangoc G, Broxmeyer HE. P21 deficiency causes deformed nuclear architecture, centriole overduplication, polyploidy, and relaxed microtubule damage checkpoints in human hematopoietic cells. *Blood* 1999;93:1390-8.
93. Pearce AK, Humphrey. Integrating stress-response and cell-cycle checkpoint pathways. *Trends Cell Biol.* 2001;11:426-33.
94. Yin C, Knudson CM, Korsmeyer SJ, Van Dyke T. Bax suppresses tumorigenesis and stimulates apoptosis *in vivo*. *Nature* 1997 Feb 13;385(6617):637-40.
95. Lars Kjøller and Alan H. Signaling to Rho GTPase. *Exp. Cell Res.* 1999;253:166-79.
96. Chuang TH, Hahn KM, Lee JD, Dandley DE, Bokoch GM. The small GTPase Cdc42 initiates an apoptotic signaling pathway in Jurkat lymphocytes. *Mol. Biol. Cell.* 1997;8:1687-93.
97. Post PL, Bokoch GM, Mooseker MS. Human myosin-IXB is a mechano chemically active motor and GAP for Rho. *J. Cell Sci.* 1998;111:941-9.
98. Price LS, Leng J, Schwartz MA, Bokoch GM. Activation of Rac and Cdc42 by integrins mediates cell spreading. *Mol. Cell Biol.* 1999;10:1523-31.
99. Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem. J.* 2000; 348:241-55.
100. Marshall C. How do small GTPases signal transduction pathways regulate cell cycle entry? *Curr. Opin. Cell Biol.* 1999;11:732-6.
101. Balmanno K, Cook SJ. Sustained MAP kinase activation is required for the expression of cyclin D, p21 and a subset of AP-1 proteins in CCL39 cells. *Oncogene* 1999;18:3085-97.
102. Takuwa N, Fukui Y, Takuwa Y. Cyclin D expression mediated by phosphatidylinositol 3-kinase through mTOR-p70(S6K)-independent signalling in growth factor-stimulated NIH3T3 fibroblasts. *Mol. Cell Biol.* 1999;19:1324-58.
103. Kawada M, Yamagoe S, Murakami Y, Suzuki K, Mizuno S, Uehara Y. Induction of p27 degradation and anchorage independence by Ras through the MAP kinase signaling pathway. *Oncogene* 1997;15:629-37.
104. Van AL, D'Souza-Schorey C. Rho GTPases and signaling networks. *Gen. Dev.* 1997;11:2295-322.
105. Sahai E and Marshall CJ. Rho GTPases and cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2002;2(2): 133-42.

Recibido en febrero de 2004. Aprobado en abril de 2004.