

Alteraciones genéticas inducidas por los tratamientos antitumorales en pacientes pediátricos con cáncer: carcinogénesis química

Genetic alterations induced by the anti-tumoral treatments in paediatric patients with cancer: chemical carcinogenesis

A. Patiño, R. López de Mesa, L. Sierrasesúmaga

INTRODUCCIÓN

De los aproximadamente 1.500 niños menores de 15 años que son diagnosticados de cáncer cada año en España, un 75% aproximadamente, van a ser curados de su proceso maligno primario¹. Se ha estimado que la prevalencia de adultos jóvenes (entre 15 y 45 años) supervivientes de un cáncer de la infancia será de 1 por 1000 habitantes en el año 2000 en los Países Desarrollados y, posiblemente, de 1 por cada 250 en el año 2010².

Esta dramática progresión hacia la curación nos sitúa en una posición de lujo desde la cual resulta imprescindible evaluar la calidad de la supervivencia obtenida bajo diferentes puntos de vista: médicos, psicosociales, intelectuales e, incluso, en términos de coste sanitario. En algunos de los estudios previamente realizados en supervivientes de cáncer infantil, se han detectado alteraciones, que repercuten de forma grave en la calidad de vida, en hasta el 40% de los pacientes^{3,4}.

Se pueden hacer varias generalizaciones sobre los efectos secundarios esperables teniendo en cuenta el tipo de tumor primario, su localización, la modalidad de tratamiento aplicado y la edad del paciente al recibir el mismo. Por ejemplo, la radioterapia induce pocos efectos adversos agudos, predominando las lesiones tardías tras un periodo largo de latencia

* Laboratorio de Pediatría. Departamento de Pediatría. Clínica Universitaria y Universidad de Navarra.

Correspondencia:
Dra. Ana Patiño García
Laboratorio de Pediatría
Edificio C.I.F.A.
Universidad de Navarra
E31080 Pamplona
Tfno. 948 425653
Fax 948 425652
E-Mail: apatigar@unav.es

asintomática. La quimioterapia, por el contrario, está llena de efectos agudos, generalmente de carácter transitorio y, en menor grado, induce lesiones permanentes⁵⁻⁷.

Dado que la mayoría de las drogas citostáticas son dependientes del ciclo celular, las toxicidades agudas se relacionan con la cinética proliferativa de poblaciones celulares determinadas. Los órganos o tejidos más susceptibles son aquéllos que muestran una tasa de división celular alta (médula ósea, mucosas, testículo e hígado). Por el contrario, aquéllos cuya replicación celular es mínima o inexistente (neuronas, músculo) son los menos susceptibles a la acción tóxica de la quimioterapia. Por supuesto existen excepciones a estas generalizaciones y así, los alcaloides de la vinca, el methotrexate o las altas dosis de Ara-C pueden causar lesiones en el Sistema Nervioso Central^{8,9}. Más aún, lesiones que ocurren en tejidos con baja capacidad de reparación pueden resultar en un daño permanente. Por todo ello, aunque inicialmente se consideró que los niños toleraban la toxicidad aguda mejor que los adultos, su condición de "ser en crecimiento" les hace especialmente vulnerables a las secuelas tardías del tratamiento.

El conocimiento actual de gran parte de las alteraciones inducidas es puramente empírico y, en muchas ocasiones, se reduce a la constatación porcentual del fenómeno observado, desconociéndose los mecanismos íntimos que originan la lesión. Incluso se desconoce en la actualidad la incidencia real de muchos de los efectos tóxicos tardíos esperados.

Hay que tener en cuenta que las cifras de supervivencia se han incrementado de forma espectacular en un corto periodo de tiempo (desde los años 70 a los 90), y en la actualidad se carece del seguimiento completo de una generación que nos permita evaluar hasta las últimas consecuencias los efectos de los tratamientos recibidos en una época tan crucial para los tejidos y órganos del ser humano.

Tampoco disponemos, en la mayoría de las situaciones, de una explicación plausible que justifique la aparición o no de los efectos no deseados. Los factores predisponentes o pronósticos que anuncien el desarrollo de una posible toxicidad crónica son un área de investigación clínica de vital importancia en la Oncología Pediátrica. Para evitar el desarrollo de un efecto secundario adverso debemos conocer los mecanismos íntimos a través de los cuales la radioterapia y/o quimioterapia inducen las diferentes lesiones, conocer las situaciones biológicas que favorecen o dificultan su aparición y, por último, experimentar con acciones alternativas que controlen el desarrollo de las mismas.

Hoy en día sabemos que si una persona menor de 15 años de edad, en condiciones normales, posee una probabilidad de desarrollar un cáncer de 12 casos por 100.000 por año, en un

superviviente de un tumor maligno, esta incidencia se multiplica por 10 ó por 20^{10,11}. Bajo el punto de vista clínico se han realizado avances importantes en cuanto a la epidemiología y definición de algunos de los factores inductores del segundo tumor (agentes alquilantes, radioterapia, inmunosupresión mantenida, etc.), si bien siguen existiendo lagunas importantes respecto a los mecanismos de carcinogénesis que posibilitan su desarrollo así como acerca de los factores biológicos facilitadores de dicha carcinogénesis.

LA CARCINOGENESIS QUÍMICA

La carcinogénesis, sea cual sea su naturaleza, se define como la transformación de células normales en células malignas, que poseen crecimiento incontrolado, capacidad de metástasis y todas las características morfológicas y biológicas de las células tumorales. Existen diferentes tipos de "insultos" que poseen la capacidad de transformar a las células y generalmente se engloban en alguno de estos grupos: agentes químicos (90-95% de los casos), la radiación (1-5%) y los agentes biológicos o virus (1-2%). En esta revisión se hará especial hincapié en la carcinogénesis química, que es el mecanismo de acción habitual de las drogas utilizadas en la quimioterapia.

El médico inglés Percival Pott, hace más de 200 años, estableció por primera vez la relación entre un carcinógeno y un tumor concreto al observar la frecuencia incrementada de cáncer de escroto entre los deshojadores, quienes sufrían exposiciones prolongadas al hollín y alquitrán. Desde entonces, múltiples compuestos químicos han demostrado tener capacidad carcinogénica¹². Dichos compuestos pueden ser tanto de origen manufacturado como ambiental y, si bien no existe una estructura común diferencial a la que se pueda atribuir la propiedad carcinogénica, sí existe un mecanismo común de acción.

Entre las características biológicas de la carcinogénesis química y sus fases cabe destacar lo siguiente:

- La existencia de relación dosis-respuesta^{13,14}. Al menos en los modelos experimentales, la carcinogénesis química requiere exposición repetida al agente para originar el tumor. Uno de los hechos diferenciales de este tipo de tumorigénesis es el período de latencia necesario entre la administración de la primera dosis del agente y el posterior desarrollo del tumor. Diferentes trabajos experimentales han demostrado que existe una relación inversa entre la dosis del carcinógeno y el período de latencia y que algunos agentes pueden producir un tumor tras una administración única mientras otros requieren múltiples aplicaciones. Esta variabilidad depende, no sólo de la potencia carcinogénica de los compuestos, sino también de la especie y naturaleza genética del individuo que padece la exposición.

- La naturaleza escalonada del desarrollo del cáncer. El tiempo transcurrido entre la administración de un agente carcinogénico y el desarrollo de un tumor puede dividirse en diferentes períodos (Fig. 1):

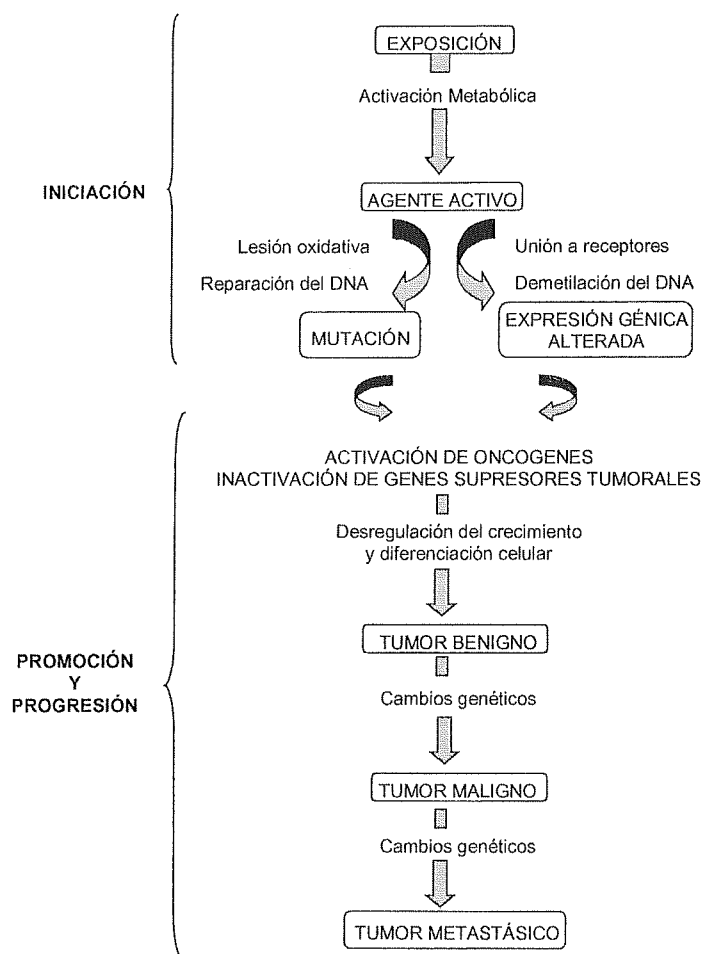


Figura 1. Modelo de carcinogénesis química. Fases en que se divide y alteraciones genéticas que lleva asociada.

1. Iniciación: es el resultado directo de la administración del agente químico: es un proceso rápido, habitualmente reversible, mediante el cual los productos químicos producen cambios permanentes en la estructura del ADN de la célula diana.

2. Promoción: es el proceso por el cual se estimula la formación tumoral en el tejido expuesto. En este caso, los cambios tisulares y celulares suelen ser de carácter reversible

durante un largo periodo de latencia, hasta que aparece la primera célula tumoral autónoma.

3. Progresión: es el periodo de transformación maligna completa de la célula, que alcanza su máximo grado de malignidad.

LA CARCINOGENESIS INDUCIDA POR QUIMIOTERAPIA

La mayoría de las drogas quimioterápicas utilizadas contra el cáncer presentan, como ya se ha mencionado, acciones genotóxicas que pueden ocasionar en el individuo que las sufre la aparición de segundos tumores. Los citostáticos actúan como un factor de riesgo independiente, pero sus efectos se incrementan si se administra radioterapia.

En general existen dos tipos de drogas que destacan por su conocida acción sobre la dotación cromosómica del individuo al que son administradas: los agentes alquilantes y los inhibidores de la topoisomerasa II, que se diferencian tanto en el periodo de latencia como en las características de la enfermedad secundaria que se origina (Tabla 1)¹⁵. En la mayoría de los casos, el efecto cancerígeno depende de la dosis total acumulada y del calendario de administración.

Tabla 1. Características de las Leucemias Mieloides Agudas que se desarrollan secundariamente al tratamiento con citostáticos.

Características	Agentes Alquilantes	Inhibidores Topoisomerasa
Período de latencia	4-6 años (rango de 1 a 20)	1-3 años (rango de 0,5 a 4,5)
Presentación	Síndrome mielodisplásico	Leucemia Aguda
Genotipo	Deleciones crom. 5 y 7	Translocaciones, aberraciones de la banda 11q23
Fenotipo	M6 y M7	M4 y M5

LA CARCINOGENESIS A NIVEL MOLECULAR

Aunque hoy en día se conocen un importante número de aberraciones cromosómicas asociados a tumores tanto primarios como inducidos por agentes químicos, está ganando peso la idea de que dichas alteraciones son únicamente la manifestación de una inestabilidad genómica subyacente.

Diversos trabajos recientes sugieren que los cromosomas de los individuos que presentan tumores son, al menos, el doble de sensibles al efecto de ciertas drogas o agentes clastogénicos que los cromosomas de individuos sanos de la misma edad¹⁶.

De todo lo citado anteriormente se concluye que el desarrollo de un tumor es el producto de una "agresión" a la célula que se traduce, en última instancia, en mutación en uno o varios genes que controlan la división y el ciclo celular¹⁷. Las alteraciones genéticas pueden ser de diferentes tipos y afectar a diferentes clases de genes implicados en el desarrollo de tumores. Dichas alteraciones pueden ser clasificadas en cuatro tipos principales:

- Cambios en la secuencia del ADN: incluyen sustituciones de bases o deleciones e inserciones de pocos nucleótidos y se detectan mediante técnicas de biología molecular.

- Alteraciones en el número de cromosomas: constituyen la ganancia o pérdida de cromosomas completos y se encuentran en la mayoría de los tumores humanos.

- Translocaciones cromosómicas: son intercambios de material genético entre diferentes cromosomas, de manera que las proteínas codificadas son "quimeras" o mixtas entre las dos secuencias codificantes intercambiadas. Caracterizan a la mayoría de las neoplasias hematológicas y pueden ser detectadas tanto por citogenética como por técnicas de biología molecular.

- Amplificaciones génicas: se producen amplificaciones múltiples de una región de ADN y, por tanto, de los genes que contiene, que se encuentran sobreexpresados. El producto de las amplificaciones son figuras citológicas muy características que se denominan Regiones de Tinción Homogénea (HSR, *Homogeneously Staining Regions*) o "Double Minutes".

Los genes que pueden ser dianas para uno o varios de los tipos de alteraciones descritos están implicados, como se ha mencionado, en el control de la proliferación celular, diferenciación y muerte celular programada o apoptosis y, en general se agrupan en alguna de las siguientes clases¹⁸ (Fig. 2):

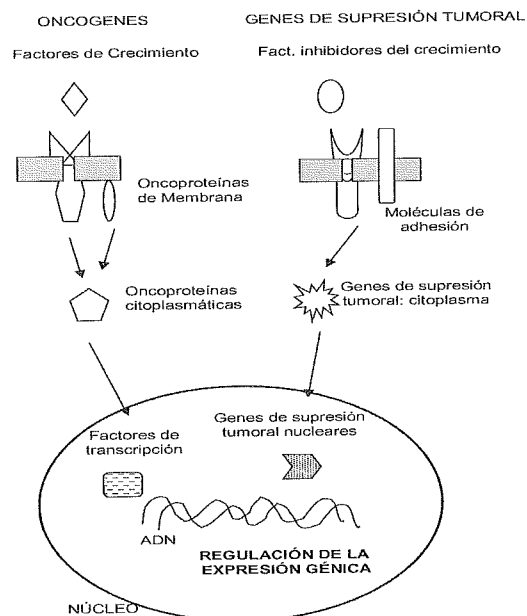


Figura 2. Tipos de genes principales asociados al desarrollo de tumores y sus mecanismos de acción.

1. Oncogenes. Son copias alteradas de genes celulares normales (proto-oncogenes) que producen, en las células que los portan, alteraciones en las vías de transmisión de señales y los consiguientes cambios fenotípicos y capacidad de proliferación autónoma incontrolada¹⁹. En general, su forma de activación se describe como "dominante", ya que de las dos copias celulares existentes de cada gen, es necesaria únicamente la alteración de una de ellas para que un proto-oncogén se transforme en oncogén. Los oncogenes, a menudo, son clasificados de acuerdo a la función de su correspondiente proto-oncogén en las vías de transducción de señales (Fig. 3):

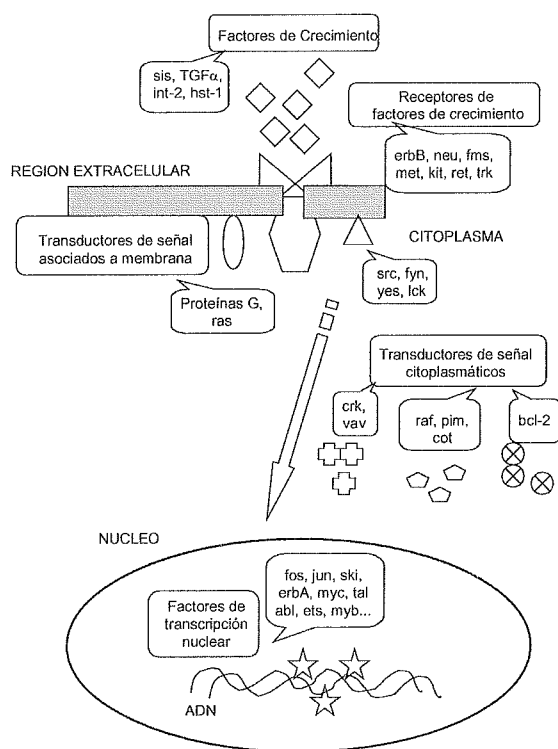


Figura 3. Clasificación y ejemplos de los oncogenes principales implicados en la carcinogénesis del ser humano, su localización celular y mecanismo de acción.

- Factores de crecimiento
- Receptores de factores de crecimiento
- Transductores de señales (de membrana y citoplasmáticos)
- Factores de transcripción nuclear

2. Genes supresores tumorales²⁰. Pueden ser definidos como genes cuya represión, inactivación, disfunción o pérdida resulta en transformación celular maligna. Fueron descritos inicialmente en cánceres familiares, cuyo prototipo es el retinoblastoma, y posteriormente y con similares características se han ido describiendo un número creciente de este tipo de genes del cáncer (Tabla 2).

Tabla 2. Características de algunos de los genes de supresión tumoral más importantes que han sido asociados con tumores humanos.

Gen	Localización cromosómica	Tumor/es asociado/s
RB1	13q14	Retinoblastoma, osteosarcoma, leucemia, pulmón, mama, ovario, etc.
TP53	17p13	Síndrome Li-Fraumeni y mayoría de los tumores esporádicos
WT1	11p13-15	Tumor de Wilms
NF-1	17q11.2	NF von Recklinghausen
APC	5q21	Colon, poliposis familiar
DCC	18q21	Carcinoma de colon
BRCA-1	17q21	Mama (formas tempranas), ovario, próstata, colon
BRCA-2	13q	Mama (formas tempranas y varones)
MST1	9p21	Melanoma familiar, T-ALL, glioblastoma, NSCLC, vejiga, etc.
MSH-2	2p16	Colon, endometrio, estómago
MLH-1	3p21.3-23	Páncreas, vejiga, ovario, mama

Su mecanismo de inactivación o transformación en genes "tumorales" se conoce, en oposición al de los oncogenes, como "recesivo", ya que ambas copias celulares del gen han de inactivarse, suprimirse o alterarse para que el gen pierda su función y adquiriera las propiedades de transformación. El papel biológico de estos genes está siendo estudiado en la actualidad, y por el momento carecemos de una clasificación celular de los mismos, pero casi todos los genes de supresión tumoral aislados han demostrado tener un papel vital en la regulación y "vigilancia" del ciclo celular normal.

3. Genes de reparación del ADN²¹. Constituyen una familia de genes relacionados con la inestabilidad en regiones repetidas del ADN, que puede ser el resultado de un defecto en el mecanismo de reparación/replicación debido a la pérdida de la fidelidad en la replicación del ADN. Estas mutaciones se asociaron a genotipos y fenotipos característicos en tumores malignos de colon.

MECANISMOS DE MEDIDA DE CARCINOGENESIS

La variación individual en la respuesta a los agentes carcinogénicos es muy amplia y depende de factores como la capacidad de metabolización de cada individuo, la capacidad de reparación del ADN o la predisposición genética a diferentes

enfermedades. Un objetivo fundamental de la salud pública debe de ser poder determinar la sensibilidad intrínseca de los individuos a los carcinógenos, con el fin de desarrollar técnicas diagnósticas sensibles y prácticas que permitan identificar poblaciones o individuos de alto riesgo²².

En general, está bien aceptado entre los investigadores del campo que la medida de la sensibilidad a diferentes mutágenos es una buena estimación del riesgo de carcinogénesis²³. Esta hipótesis se apoya en el hecho de que los individuos con enfermedades que implican una inestabilidad cromosómica heredable (Ataxia Telangiectasia, Xeroderma Pigmentosum, etc.) poseen riesgo incrementado de desarrollar tumores respecto a la población general.

La medida de la sensibilidad mutagénica se puede abordar desde diferentes niveles:

- Nivel molecular. Es posible cuantificar y caracterizar la presencia de mutaciones en genes que están implicados en el desarrollo de tumores: genes de supresión tumoral, oncogenes, genes reparadores de DNA, etc.

Así mismo, es posible detectar, mediante técnicas de biología molecular, la pérdida o alteración de regiones cromosómicas que contienen genes importantes en la regulación de los procesos celulares. Dichas técnicas consisten, generalmente, en el análisis de polimorfismos genéticos altamente informativos (VNTR o *Variable Number of Tandem Repeats*) y en la amplificación de múltiples bandas del ADN (ADN *finger-printing*) y comparación de los patrones antes y después de la aplicación del carcinógeno químico.

- Nivel cromosómico. El abordaje más común es el tratamiento (*in vitro*) de los linfocitos del individuo en estudio con un agente clastogénico denominado bleomicina (que se utiliza igualmente como citostático en el tratamiento del cáncer). Tras la exposición a bleomicina es posible medir el índice de inestabilidad, consistente en la medida del número de roturas cromosómicas por linfocito expuesto.

Otra posibilidad de medida de la susceptibilidad a agentes químicos mediante técnicas citogenéticas es la realización de un cariotipo convencional en linfocitos de sangre periférica del individuo expuesto y análisis de las aberraciones cromosómicas, tanto numéricas como estructurales.

CONCLUSIONES

La estimación de riesgo de tumorigénesis debe concebirse como un proceso multidisciplinar, que se extiende más allá de los métodos epidemiológicos tradicionales que, si bien son válidos para evaluar los efectos clínicos de la exposición a carcinógenos, no poseen la capacidad de identificar situacio-

nes o individuos de riesgo antes de que los efectos adversos sobre la salud sean evidentes.

Así, la estimación de riesgo debe de incluir la evaluación de las diferencias interindividuales en la susceptibilidad a carcinógenos, que incluyan medidas de reparación de DNA y de activación metabólica de carcinógenos. El estudio de estos "marcadores de riesgo" conducirá, probablemente, a la identificación de subgrupos de alto riesgo que pueden ser sometidos a diferentes estrategias de quimioprevención y protección.

BIBLIOGRAFÍA

1. PERIS R *et al*. Datos del Registro Nacional de Tumores Infantiles. Datos de Memoria. XVIII reunión Nacional de la S.E.O.P. Jaca Mayo 1996.
2. BLEYER WA. The impact of childhood cancer on the United States and the World. *CA* 1990; 40: 355-367.
3. BLATT J, COPELAND DR, BLEYER WA. Late effects of childhood cancer and its treatment. *Principles of Pediatric Oncology* 1994.
4. MEADOWS AT, HOBBIE WL. The medical consequences of cure. *Cancer* 1986; 58: 524-528.
5. FIELER VK. Side effects and quality of life in patients receiving high-dose rate brachytherapy. *Oncol Nurs Forum* 1997; 24: 545-553.
6. MANAVOGLU O, ORHAN B, EVRENSEL T, KARABULUT Y, OZKOCAMAN V, OZYARDIMCI C. Second primary cancer due to radiotherapy and chemotherapy. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1996; 15: 275-278.
7. LEAHEY AM, TEUNISSEN H, FRIEDMAN DL, MOSHANG T, LANGE BJ, MEADOWS AT. Late effects of chemotherapy compared to bone marrow transplantation in the treatment of pediatric acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Med Pediatr Oncol* 1999; 32: 163-169.
8. WILLIAMS JM, DAVIS KS. Central nervous system prophylactic treatment for childhood leukemia: neuropsychological outcome studies. *Cancer Treat Rev* 1986; 13: 113-127.
9. HWANG TL, YUNG WK, LEE YY, BORIT A, FIELDS WS. High dose Ara-C related leukoencephalopathy. *J Neurooncol* 1986; 3: 335-339.
10. TUCKER MA, MEADOWS AT, BOICE JD. Cancer risk following treatment of childhood cancer. En: Boyce JD, Fraumeni JF, editores. *Radiation carcinogenesis: Epidemiology and Biologic Significance*. New York: Raven Press 1984: 211-244.
11. COLDITZ GA, HOAGLIN DC, BERKEY CS. Cancer incidence and mortality: the priority of screening frequency and population coverage. *Milbank Q* 1997; 75: 147-173.
12. FERRIS TORTAJADA J, GARCÍA CASTELL J, LÓPEZ ANDREU JA, BERBER TORNERO O. Factores ambientales asociados a cánceres pediátricos. *Rev Esp Pediatr* 1999; 55: 166-177.
13. LUTZ WK. Dose response relationships in chemical carcinogenesis: superposition of different mechanisms of action, resulting in linear-nonlinear curves, practical thresholds, J-Shapes. *Mutat Res* 1998; 405: 117-124.
14. PURCHASE IF, AUTON TR. Thresholds in chemical carcinogenesis. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 22: 199-205.
15. SMITH MA, MCCAFFREY RP, KARP JE. The secondary leukemias: Challenges and research directions. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 407-418.
16. TZANCHEVA M, KOMITOWSKI D. Latent chromosomal instability in cancer patients. *Hum Genet* 1997; 99: 47-51.
17. SKLAR J. Principles of molecular cell biology of cancer: Molecular approaches to cancer diagnosis. En: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA,

- editores. Cancer: Principles and Practice of Oncology. Philadelphia: JB Lippincott 1993: 92-113.
18. KARP JE, BRODER S. Molecular foundations of cancer: new targets for intervention. *Nature Med* 1995; 1: 309-320.
 19. PERKINS AS, VANDE WOUDE GF. Principles of molecular cell biology of cancer: Oncogenes. En: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editores. Cancer: Principles and Practice of Oncology. Philadelphia: JB Lippincott 1993: 35-59.
 20. VILE RG. Tumour suppressor genes and cancer-the missing link?. En: Vile RG, editor. Introduction to the Molecular Genetics of Cancer. Philadelphia: John Wiley & Sons Ltd 1992: 99-131.
 21. LENGAUER C, KINZLER KW, VOGELSTEIN B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998; 396: 643-649.
 22. SPITZ MR, BONDY ML. Genetic susceptibility to cancer. *Cancer* 1993; 72: 991-995.
 23. SPITZ MR, HOQUE A, TRIZNA Z, SCHANTZ SP, AMOS CI, KING TM et al. Mutagen sensitivity as a risk factor for second malignant tumors following malignancies of the upper aerodigestive tract. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 1681-1684.