

**ELS PREMIS NOBEL  
DE L'ANY 2001  
SOBRE EL  
PREMI NOBEL DE MEDICINA  
CONCEDIT A  
LELAND H. HARTWELL,  
R. TIMOTHY HUNT  
I PAUL M. NURSE,  
A CÀRREC D'ORIOI BACHS,  
DE LA UNIVERSITAT  
DE BARCELONA**

El Premi Nobel de Fisiologia o Medicina de l'any 2001 ha estat concedit a tres investigadors: dos d'anglesos, Paul Nurse i Timothy Hunt, i un de nord-americà, Leland Hartwell. El premi els ha estat concedit per la seva contribució al descobriment dels mecanismes implicats en el control de la proliferació cel·lular.

La proliferació cel·lular és un procés pel qual una cèl·lula es divideix donant lloc a dues cèl·lules filles genèticament iguals. Per tal de portar a terme aquest cicle de divisió cel·lular, la cèl·lula ha de créixer (assolir el doble de la seva mida), duplicar el seu material genètic (els cromosomes), separar les dues còpies dels cromosomes i finalment partir-se en dos. Aquests fets s'han de portar a terme d'una manera ordenada, i això defineix quatre fases dins del cicle de divisió cel·lular. Aquest comença per una fase denominada  $G_1$ , que essencialment és una fase de creixement, després continua amb la fase S, on es produeix la duplicació cromosòmica. Quan aquesta acaba, comença un període denominat  $G_2$  on la cèl·lula es dedica a comprovar que no hi hagi alteracions (mutacions) en els nous cromosomes i, si en troba, s'activen mecanismes de reparació d'aquestes anomalies. Després del  $G_2$  s'inicia la mitosi (fase M), on se separen els cromosomes duplicats i finalment la cèl·lula es parteix en dos. En general, tot el cicle cel·lular dura aproximadament unes vint-i-quatre hores.

Aquest procés està altament regulat per tal que les cèl·lules es divideixin només quan sigui necessari i evitar que les cèl·lules filles acumulin anomalies genètiques. Aquesta regulació és especialment important en el cas de les cèl·lules dels organismes pluricel·lulars (amfibis, mamífers, etc.), ja que, en aquests organismes, les cèl·lules formen part de teixits i òrgans amb una estructura molt definida i funcions

molt específiques. Si el control del cicle cel·lular no fos molt acurat i les cèl·lules es dividissin en moments o llocs inadequats, l'arquitectura dels òrgans quedaria afectada i la seva funció seria anòmala. Això és el que succeeix en el cas del càncer: les cèl·lules proliferen quan no han de fer-ho, i es generen els tumors que alteren el funcionament dels òrgans.

#### ELS SENYALS EXTERNS QUE REGULEN LA PROLIFERACIÓ CEL·LULAR

Com sap la cèl·lula quan ha de dividir-se? La regulació de la proliferació cel·lular depèn, en primer lloc, de senyals externs que interaccionen amb la membrana plasmàtica de la cèl·lula i generen la resposta proliferativa. Un primer grup de senyals externs que regulen la proliferació cel·lular està format pels anomenats factors de creixement. Aquests factors són proteïnes localitzades a l'entorn extern de la cèl·lula i que poden unir-se a la superfície d'aquestes. La major part dels factors de creixement són reguladors positius, és a dir, activen la proliferació cel·lular. Alguns d'aquests factors de creixement, com, per exemple, el factor de creixement epidèrmic (EGF), actuen activant la proliferació d'un nombre important de tipus cel·lulars diferents. En canvi, altres factors de creixement, com la interleucina 2, són molt específics i solament actuen activant la proliferació d'un únic tipus cel·lular, en aquest cas els limfòcits T.

Per tal que els factors de creixement puguin activar la proliferació de les cèl·lules, aquestes han de tenir, a la seva membrana plasmàtica, proteïnes receptores que reconeguin específicament aquests factors de creixement. Així doncs, els factors de creixement només activaran els tipus cel·lulars que tinguin aquests receptors específics que els reconeguin. Quan els factors de creixement s'associen amb aquests receptors a

la membrana cel·lular, les cèl·lules responen activant els anomenats factors promotors del cicle cel·lular, que s'encarreguen d'engagar i regular la progressió a través de les diferents fases del cicle cel·lular.

Malgrat que la majoria dels factors de creixement són activadors de la proliferació, n'hi ha però una família que, contràriament als altres, són reguladors negatius, és a dir, actuen inhibint la proliferació. El membre més representatiu d'aquesta família és el factor de creixement transformant  $\beta$  (TGF  $\beta$ ), el qual, quan interacciona amb els receptors específics de la membrana cel·lular, indueix una resposta intracel·lular que inactiva els factors promotors del cicle cel·lular.

Un altre senyal extern que regula la proliferació cel·lular és la interacció de les cèl·lules amb la matriu extracel·lular. La matriu extracel·lular és una estructura formada per una xarxa de molècules que serveix de suport a les cèl·lules dins dels teixits i òrgans. Les cèl·lules disposen en la seva membrana plasmàtica de proteïnes que s'associen específicament a diferents components de la matriu extracel·lular. Les cèl·lules només poden proliferar quan estan adherides a la matriu extracel·lular específica del teixit on normalment estan situades. La manca d'unió d'una cèl·lula a la matriu extracel·lular genera una resposta que inactiva els factors promotors del cicle cel·lular i, per tant, en bloqueja la capacitat de proliferació. Aquest és un mecanisme de regulació que impedeix que una cèl·lula després accidentalment del seu lloc original pugui sobreviure i proliferar en altres llocs de l'organisme.

Finalment, un altre senyal extern que modula la proliferació cel·lular és el contacte cèl·lula-cèl·lula. Quan les cèl·lules estan molt separades les unes de les altres poden dividir-se sense cap restricció. Però quan les cèl·lules entren en contacte, es desencadena una resposta que inhibeix l'acti-

vitat dels factors promotors del cicle cel·lular i, per tant, les cèl·lules aturen la proliferació. Aquest mecanisme, anomenat inhibició per contacte, impedeix que les cèl·lules s'amunteguin les unes sobre les altres i, per tant, participa en la definició de l'arquitectura normal dels teixits.

#### ELS SISTEMES DE VIGILÀNCIA DEL CICLE CEL·LULAR (CHECKPOINTS)

Les cèl·lules també han desenvolupat mecanismes de vigilància intracel·lular (*checkpoints*) que controlen que els diferents processos del cicle cel·lular tinguin lloc correctament. Aquests sistemes són capaços de detectar les anomalies que es produeixen durant la proliferació i, quan les detecten, inhibeixen l'activitat dels factors promotors del cicle cel·lular i, simultàniament, activen sistemes per reparar les alteracions detectades. Quan el problema s'ha solucionat, el cicle cel·lular pot continuar. En cas que les anomalies no puguin ser reparades, els sistemes de vigilància disparen un programa intracel·lular que condueix a la mort de la cèl·lula. Aquesta mort cel·lular programada s'anomena apoptosi. Els mecanismes de vigilància asseguren, doncs, que la cèl·lula creixi fins a la mida adequada, que no s'acumulin alteracions en el material genètic, que aquest es dupliqui correctament i en el moment adequat i que, finalment, còpies iguals dels cromosomes es distribueixin a cadascuna de les cèl·lules filles.

13

#### ELS FACTORS PROMOTORS DEL CICLE CEL·LULAR

L'essència del treball dels investigadors que han estat guardonats amb el Premi Nobel de Medicina aquest any ha estat,

precisament, la demostració que els factors promotors del cicle cel·lular estan formats per dues famílies de proteïnes, les ciclines i les cinases dependents de ciclines (CDK). Un altre aspecte fonamental descrit per aquests investigadors és que els mecanismes de control de la proliferació cel·lular són universals, és a dir, les ciclines i les CDK regulen la proliferació de les cèl·lules de tots els organismes eucariotes, des dels lleuats fins a l'espècie humana.

Com actuen les ciclines i les CDK per tal de regular el cicle cel·lular? Les ciclines reben aquest nom perquè la seva concentració a les cèl·lules oscil·la durant el procés de proliferació cel·lular. Les CDK són proteïnes que presenten una activitat cinasa, és a dir, actuen incorporant grups fosfat —fosforilen— a altres proteïnes. L'addició de grups fosfat és un mecanisme universal i molt important per a la regulació de la funció de les proteïnes. Quan una proteïna és fosforilada, la seva funció canvia. Per exemple, si estava inactiva pot passar a ésser activa o a l'inrevés. Les CDK són cinases que, per tal de poder realitzar la seva funció, necessiten estar associades a les ciclines. Per tant, les CDK només seran actives quan la cèl·lula tingui nivells alts de ciclines i es puguin formar complexos ciclines-CDK. Així doncs, quan les CDK s'activen per associació amb les ciclines, dins la cèl·lula, es fosforilen un conjunt de proteïnes que assumiran una activitat que induirà la cèl·lula a iniciar i continuar el procés de proliferació.

Les ciclines s'anomenen amb lletres que van des de la A fins a la H, i les diferents CDK s'identifiquen amb nombres de l'1 al 7. Les ciclines i les CDK s'uneixen formant parelles específiques en diferents moments del cicle cel·lular. Així, al principi del cicle cel·lular, durant la fase  $G_1$ , es formen complexos de ciclina D amb CDK4 i CDK6; a finals del  $G_1$  es formen complexos ciclina E-CDK2, que són necessaris per a la iniciació de la duplicació dels cromosomes. Posteriorment es formen els complexos ciclina A-CDK2, necessaris per a la

progressió de la fase S, i, finalment, per tal d'iniciar la mitosi es necessiten els complexos ciclina B-CDK1. Aquesta formació seqüencial de complexos ciclina-CDK és el que permet que la cèl·lula reguli tot el procés de proliferació cel·lular.

#### COM REGULEN ELS SENYALS EXTERNS L'ACTIVITAT DELS COMPLEXOS CICLINES-CDK?

Anteriorment ja hem mencionat que els senyals externs que regulen la proliferació cel·lular activen els factors promotors del cicle cel·lular i ara ja sabem que aquests factors promotors són parelles específiques de ciclina-CDK. Una cèl·lula, quan no prolifera (es diu que està en estat de quiescència), no té ciclina, però sí que té CDK4/6 i CDK2. Per tant, és evident que aquestes CDK no podran ser actives, ja que els manquen les ciclina.

Per tal d'iniciar la proliferació caldrà que una cèl·lula estigui adherida a la matriu extracel·lular, que estigui separada de les altres cèl·lules veïnes i que hi hagi factors de creixement en el seu entorn i puguin unir-se a la seva membrana plasmàtica. En aquestes circumstàncies, la cèl·lula podrà començar a proliferar. L'acció conjunta entre els factors de creixement i la unió a la matriu extracel·lular generarà una resposta dins la cèl·lula que consisteix en l'acumulació de la ciclina D. Llavors, aquesta ciclina podrà unir-se a la CDK4/6. Aquests complexos ciclina D-CDK4/6 que es formen durant la fase G<sub>1</sub> aniran al nucli de la cèl·lula i allà realitzaran la seva funció per tal de fer progressar el cicle cel·lular. Quina és aquesta funció? Hem dit que els complexos ciclina-CDK actuen fosforilant altres proteïnes que, en ser modificades d'aquesta manera, s'activen o inactiven. La funció dels complexos ciclina D-CDK4/6 és fosforilar una proteïna que s'anomena proteïna del retinoblastoma (pRB). Aquesta proteïna rep aquest nom perquè la seva inactivació o pèrdua està

associada a un tipus de tumor de la retina que s'anomena retinoblastoma. Durant la quiescència i al principi de la fase  $G_1$ , la proteïna pRB està unida a factors de transcripció (proteïnes que activen l'expressió dels gens) de la família E2F. Aquesta unió fa que aquests factors de transcripció estiguin inactius, i, per tant, l'expressió de gens importants per a la proliferació cel·lular està aturada. Quan els complexos ciclina D-CDK4/6 fosforilen la proteïna pRB, els factors de transcripció E2F s'activen parcialment i això permet que s'indueixi l'expressió d'alguns gens que codifiquen per proteïnes importants per a la progressió del cicle cel·lular, com, per exemple, la ciclina E. Així doncs, el que essencialment fa l'activació dels complexos ciclina D-CDK4/6 és induir la síntesi de la ciclina E.

La ciclina E que ha aparegut cap a mitja fase  $G_1$  o cap al final s'unirà a l'altra cinasa important per a la regulació del cicle cel·lular, la CDK2, fet que produirà l'activació d'aquesta cinasa. Els complexos ciclina E-CDK2 activats també fosforilaran la proteïna pRB i això permetrà que el factor de transcripció E2F s'alliberi de pRB. Llavors, E2F induirà l'expressió d'altres gens necessaris per a l'inici de la duplicació dels cromosomes. Com a conseqüència d'aquesta nova onada d'expressió de gens, apareixen proteïnes com la ciclina A, que serà necessària per regular la síntesi del DNA, les DNA polimerases, que són les encarregades de sintetitzar el nou DNA, o la cinasa CDK1, que es necessitarà posteriorment per iniciar la mitosi.

Quan la cèl·lula ha acumulat tota aquesta sèrie de proteïnes, pot començar la fase S o fase de duplicació cromosòmica. Aquesta fase s'inicia també per l'acció dels complexos ciclina E-CDK2 actius. Aquests complexos fosforilen proteïnes situades en els llocs on ha de començar la replicació del DNA i d'aquesta manera desencadenen el seu inici. La duplicació cromosòmica continua amb la col·laboració dels complexos ciclina A-CDK2 que es formen de nou i actuen fosforilant proteïnes implicades en el procés de la síntesi del DNA.



Quan acaba la duplicació dels cromosomes comença la fase G<sub>2</sub>, que és una fase on es revisa l'estat del material genètic. Durant aquesta fase no hi ha cap complex ciclina-CDK que hi tingui un paper important. Quan s'ha acabat de revisar el material genètic i s'ha reparat el dany que hi pugui haver, s'activen els complexos ciclina B-CDK1, que seran responsables d'iniciar la mitosi. Tal com hem dit abans, la CDK1 apareix com a conseqüència de la fosforilació de la proteïna pRB pels complexos ciclina E-CDK2. En canvi, la ciclina B apareix durant la fase S per mecanismes que encara no es coneixen gaire bé.

El primer signe de l'inici de la mitosi és la condensació dels cromosomes. Aquest fet es produeix com a conseqüència de la fosforilació d'algunes proteïnes dels cromosomes, com la histona H1, pels complexos ciclina B-CDK1. Poc temps després es produeix el trencament de la coberta nuclear, també provocat per la fosforilació d'algunes proteïnes de la coberta nuclear, com les anomenades làmines, pels mateixos complexos ciclina B-CDK1. L'activitat ciclina B-CDK1 també és responsable de l'organització del fus mitòtic, format per microtúbuls, que s'encarregarà posteriorment de la separació dels cromosomes al final de la mitosi.

Quan els cromosomes estan preparats per separar-se, aproximadament a mitja fase de la mitosi, en l'anomenada metafase mitòtica, es produeix la degradació de la ciclina B, fet que provoca la inactivació de la cinasa CDK1. Aquest fet és imprescindible per a la separació dels cromosomes i per a la divisió de la cèl·lula en dues cèl·lules filles. La inactivació de la CDK1 permet tornar a descondensar els cromosomes, tornar a reorganitzar la coberta nuclear i tornar a desfer el fus mitòtic. En definitiva, la inactivació d'aquests complexos permet la cèl·lula d'adquirir l'estructura habitual que té quan no prolifera.

Fins ara hem descrit com els factors de creixement en col·laboració amb l'adhesió de les cèl·lules a la matriu extra-

cel·lular indueixen la proliferació cel·lular, però encara queden per respondre algunes preguntes. Per exemple, com poden aturar la proliferació els factors de creixement de la família del TGF  $\beta$ ?, o com s'atura el cicle cel·lular quan una cèl·lula perd el contacte amb la matriu extracel·lular?

Per tal de respondre aquestes preguntes hem d'introduir més elements que participen en la regulació de l'activitat dels complexos ciclins-CDK. Com que l'activitat d'aquests complexos és molt important a l'hora de decidir si la cèl·lula ha de proliferar o no, la cèl·lula disposa de més mecanismes de control d'aquestes activitats. Així doncs, a més de la unió amb les ciclins, hi ha altres mecanismes de regulació. Hi ha cinases (cinasa CAK) que fosforilen les CDK i les activen, però també hi ha cinases (wee 1) que fosforilen altres llocs de les CDK i les inactiven. Quan el complex té simultàniament la fosforilació activadora i les fosforilacions inhibidores, el complex és inactiu. En aquestes condicions, per tal d'activar el complex cal eliminar els fosfats inhibidors. Aquesta desfosforilació (pèrdua de fosfats) la desenvolupa una proteïna fosfatasa anomenada CDC25. Així doncs, la fosforilació de les CDK és un mecanisme important per a la regulació de la seva activitat.

L'activitat de les CDK també està regulada per la unió de proteïnes anomenades CKI (inhibidors de les CDK). Hi ha dues famílies de CKI: la família Cip/Kip, que comprèn la p21, la p27 i la p57, i la família INK4, que comprèn la p15, la p16, la p18 i la p19. Aquestes famílies de proteïnes tenen un mecanisme d'actuació ben diferent. Els membres de la família Cip/Kip tenen un comportament dual. Per una banda, participen en l'activació dels complexos ciclina D-CDK4/6, ja que afavoreixen la unió de la ciclina amb la CDK. Per una altra, són inhibidors potents dels complexos ciclina E-CDK2 i ciclina A-CDK2 i inhibidors moderats dels complexos ciclina B-CDK1. Aquests inhibidors s'uneixen tant

a la ciclina com a la CDK, i el complex continua estable però inactiu. En canvi, els membres de la família INK4 únicament són inhibidors de CDK4 i CDK6. Aquests inhibidors actuen unint-se a la cinasa i, per tant, impeding l'associació de CDK4/6 amb la ciclina D. Si aquests inhibidors interaccionen amb els complexos ciclina D-CDK4/6, els complexos es trenquen i l'inhibidor queda unit a la CDK.

Finalment, un altre mecanisme de regulació de les activitats ciclines-CDK és la localització intracel·lular dels complexos. En general, aquests complexos són nuclears, i és dins el nucli quan són actius, essencialment perquè la cinasa activadora CAK i la fosfatasa CDC25, també activadora de les CDK, tenen una localització únicament nuclear. En general, s'assumeix que, quan els complexos ciclines-CDK són citoplasmàtics, aquests són inactius.

Tots aquests mecanismes de regulació participen en els processos d'activació o inhibició de la proliferació induïts pels senyals externs.

Hem mencionat que hi ha factors de creixement que actuen inhibint la proliferació cel·lular, com, per exemple, el TGF  $\beta$ . Com actuen aquests factors per tal d'inhibir la proliferació? Quan el TGF  $\beta$  interacciona amb receptors específics de la membrana plasmàtica, s'activen dos mecanismes: l'acumulació de la CKI p15, que s'uneix a CDK4/6 i l'inhibeix, i, d'altra banda, la degradació de la fosfatasa CDC25, encarregada de l'activació dels complexos ciclines E/A-CDK2, els quals per aquest motiu deixen d'activar-se.

Hem comentat també que els factors de creixement ajudats per la unió a la matriu extracel·lular indueixen la síntesi de la ciclina D. Però què passa quan una cèl·lula proliferant es desenganxa de la matriu extracel·lular? En aquestes condicions, la cèl·lula indueix mecanismes que inactiven tant el complexos ciclina D-CDK4/6 com els complexos ciclina E/A-CDK2. En el primer cas, el mecanisme desencadenat és

la degradació de la ciclina D i, en el segon cas, s'indueix l'acumulació de l'inhibidor p27, que s'uneix als complexos ciclines E/A-CDK2 i els inhibeix. Aquests mecanismes impedeixen, doncs, que una cèl·lula que s'ha després del seu lloc d'origen pugui proliferar.

En definitiva, per tant, el que fan els senyals externs que regulen la proliferació cel·lular és controlar l'activitat dels diferents complexos ciclines-CDK per diverses vies de senyalització (figura 1).

#### COM REGULEN ELS SISTEMES DE VIGILÀNCIA L'ACTIVITAT DELS COMPLEXOS CICLINES-CDK?

Tal com hem mencionat anteriorment, els sistemes de vigilància del cicle cel·lular controlen que el procés de la proliferació es realitzi correctament. Aquests sistemes s'activen quan detecten alguna anomalia i responen d'una manera ràpida, inhibint els complexos ciclines-CDK per tal de donar temps perquè l'anomalia es repari. Hi ha diferents sistemes de vigilància que actuen durant el cicle cel·lular. Entre aquests destacarem el de dany al DNA i el de la mitosi.

#### *Sistema de vigilància del dany al DNA*

Segons quina sigui la fase del cicle cel·lular en què es produeix el dany al DNA, la resposta del sistema de vigilància és diferent. Si el dany al DNA es produeix durant la fase  $G_1$ , s'activen un grup de cinases (ATM, Chk1, Chk2) que actuen aturant el cicle cel·lular per dues vies diferents, una de resposta ràpida i una de resposta més lenta. En el primer cas, aquestes cinases fosforilen la proteïna CDC25, la qual, per efecte d'aquesta fosforilació, es degrada. Per tant, la resposta immediata és que els

complexos ciclines-CDK ja no poden ser activats, atès que els manca la proteïna activadora CDC25. D'altra banda, aquestes cinases fosforilen una proteïna anomenada p53, que quan està fosforilada és molt estable i, per tant, s'acumula a la cèl·lula. Aquesta proteïna es comporta com un factor de transcripció, és a dir, activa l'expressió d'una sèrie de gens, entre els quals cal destacar el de la proteïna p21. Tal com hem mencionat abans, la p21 és un potent inhibidor dels complexos ciclines E i A-CDK2, que per tant s'inactiven quan hi ha dany al DNA a causa de l'increment de p21. Aquest procés tarda més temps i per això parlem d'una via d'actuació lenta. Aquestes dues vies aturen la progressió de la divisió cel·lular fins que el dany s'ha reparat. Quan això passa, les cinases s'inactiven, la p53 es degrada i això permet que el cicle continuï, ja que els complexos ciclines-CDK poden tornar a ser activats.

Si el dany al DNA succeeix en la fase  $G_2$ , el mecanisme d'aturada del cicle és lleugerament diferent. També en aquest cas s'indueix l'activitat d'unes cinases (Chk1, Chk2) que fosforilen la CDC25. Però en aquest cas la CDC25 fosforilada no es degrada sinó que és reconeguda per una proteïna anomenada 14-3-3, que s'hi uneix i la transporta al citoplasma, on roman inactiva. Aquest mecanisme de segrest impedeix que el complex ciclina B-CDK1 s'activi i pugui començar la mitosi.

21

### *Sistema de vigilància de la mitosi*

Aquest sistema de vigilància controla que no comenci la separació dels cromosomes si no estan units a les estructures del fus mitòtic per tal de poder ser separats correctament. Tal com hem mencionat anteriorment, per tal de començar la mitosi es necessiten els complexos ciclina B-CDK1 actius. Aquesta activació permet la fosforilació de proteïnes que

indueixen la condensació de la cromatina, el trencament de l'embolcall nuclear, l'organització del fus mitòtic i la unió dels cromosomes a aquest fus mitòtic. Llavors, per tal de procedir a la separació dels cromosomes, la ciclina B s'ha de degradar i, per tant, l'activitat del complexos ciclina B-CDK1 s'inhibeix. Si l'activitat dels complexos continua, no es produeix la separació dels cromosomes.

Quan el sistema de vigilància de la mitosi detecta que els cromosomes no estan units correctament al fus mitòtic, el que fa és acumular unes proteïnes que aturen la degradació de la ciclina B i, per tant, no s'inactiva el complex ciclina B-CDK1. En aquestes condicions no se separen els cromosomes, i el cicle no s'atura fins que no s'ha reparat l'anomalia.

Així doncs, els sistemes de vigilància, quan detecten alguna anomalia, regulen la progressió del cicle cel·lular modulant l'activitat dels diferents complexos ciclins-CDK a través de diverses vies de senyalització (figura 1).

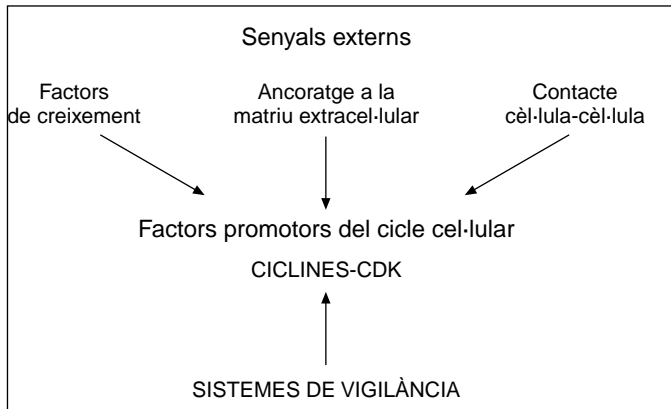


FIGURA 1. Regulació dels factors promotors del cicle cel·lular (complexos ciclins-CDK) pels senyals externs (factors de creixement, ancoratge a la matriu extracel·lular i contacte cèl·lula-cèl·lula) i pels sistemes de vigilància.

## QUINA IMPORTÀNCIA TÉ PER A LA MEDICINA EL CONEIXEMENT DE LA REGULACIÓ DEL CICLE CELLULAR?

El descobriment de les molècules que regulen la proliferació cel·lular té una importància cabdal per a la comprensió de malalties en què la proliferació cel·lular està alterada, com és el cas del càncer. Les cèl·lules canceroses presenten una sèrie d'alteracions que fan que proliferin d'una manera descontrolada. Quina relació tenen aquestes anomalies amb la maquinària reguladora del cicle cel·lular?

La característica principal de les cèl·lules canceroses és que no responen als senyals externs que regulen la proliferació cel·lular. És a dir, aquestes cèl·lules poden créixer en presència de concentracions molt baixes o en absència de factors de creixement activadors, poden ser insensibles a l'acció dels factors de creixement inhibidors com el TGF  $\beta$  i també poden haver perdut la capacitat d'inhibició per contacte entre cèl·lula-cèl·lula. Aquestes característiques els permeten de proliferar contínuament i desordenadament i, per tant, formen acumulacions cel·lulars (tumors) que trenquen l'arquitectura normal dels òrgans, de manera que en generen un mal funcionament. A més, les cèl·lules tumorals poden créixer en suspensió, és a dir, quan es desprenen de la matriu extracel·lular, poden continuar proliferant i, per tant, poden disseminar-se i formar colònies en diferents llocs de l'organisme. Aquestes colònies (metàstasis) generen un problema greu que pot posar fi a la vida de la persona afectada de càncer. Aquest descontrol de la proliferació està produït per alteracions en els mecanismes que controlen l'activitat dels complexos ciclins-CDK.

S'ha trobat que les cèl·lules tumorals sempre presenten alteracions d'alguna de les proteïnes implicades en el control del cicle cel·lular. En alguns casos s'observen pèrdues d'alguna proteïna; en altres casos s'observen quantitats elevades d'altres proteïnes i, en altres, mutacions que afecten

incrementant l'activitat de les CDK. Alguns exemples freqüents són: pèrdues dels inhibidors p15, p16, p21 o p27; pèrdues de pRB; increments de les ciclines D, E o A, increments de CDK4 o CDK2, increments de la fosfatasa CDC25 o mutacions inactivadores de pRB o activadores de les CDK. També és freqüent la presència d'alteracions de proteïnes implicades en els sistemes de vigilància del cicle cel·lular en tumors. L'exemple més significatiu és la mutació inactivadora o la pèrdua de la proteïna p53 en molts tipus de tumors.

Com afecten aquestes alteracions en el control de la proliferació cel·lular? Aquí en presentem alguns exemples. Si les cèl·lules tenen nivells alts de ciclina D, no necessitaran els factors de creixement per tal d'activar la seva síntesi. Això permet entendre per què aquestes cèl·lules podrien ser independents dels factors de creixement per proliferar. Aquest comportament pot estar reforçat per un excés de ciclina E. Si una cèl·lula tumoral té nivells elevats d'aquestes dues ciclines ja no necessitarà per a res l'estímul dels factors de creixement per proliferar.

Si la cèl·lula ha perdut la proteïna p15 o té nivells elevats de CDC25 o ambdues coses alhora, podem entendre que aquesta cèl·lula no respongui al TGF  $\beta$  i continuï proliferant en la seva presència, ja que, tal com hem mencionat abans, el TGF  $\beta$ , per tal de frenar la proliferació, incrementa els nivells de p15 i degrada la CDC25 per tal d'inactivar els complexos ciclina D-CDK4 i els complexos ciclina E/A-CDK2.

Si una cèl·lula té nivells baixos o no té p27, quan aquesta cèl·lula es desprengui de la matriu extracel·lular no podrà inactivar els complexos ciclina E-CDK2, a causa d'aquesta manca de p27; per tant, la cèl·lula podrà proliferar en suspensió, disseminar-se per l'organisme i crear colònies en altres llocs.

Si una cèl·lula no té p53 o té inactiva aquesta proteïna, quan es produeixi dany al DNA, no es podrà activar el



sistema de vigilància de dany al DNA i, per tant, el cicle cel·lular no s'aturarà i el dany es transmetrà a les cèl·lules filles, de manera que es generaran anomalies que poden repercutir en diferents graus, entre altres en la capacitat de proliferació de les cèl·lules.

Tal com hem dit abans, totes aquestes alteracions es troben sovint a les cèl·lules tumorals; així, per exemple, és molt freqüent la pèrdua de p16 en els tumors pancreàtics i la pèrdua de p27 i p53 en molts diferents tipus de tumors. També, a títol d'exemple, cal dir que la pèrdua de p27 en els tumors s'ha associat a un mal pronòstic de la malaltia en diferents tipus de tumors. Aquesta pèrdua s'associa, tal com hem explicat abans, a una capacitat pròpia de les cèl·lules de créixer en suspensió i, en conseqüència, a la capacitat per escampar-se per l'organisme i facilitar la generació de metàstasis.

Així doncs, el coneixement dels mecanismes que regulen la proliferació cel·lular, així com les alteracions d'aquests mecanismes que es produeixen a les cèl·lules tumorals, permet en aquests moments aprofundir en el coneixement d'aquesta malaltia i en el disseny de noves estratègies terapèutiques per al seu tractament.

