

Discurs d'investidura pronunciat pel Dr. Ángel Carlos Pellicer

Evidentment aquesta és una ocasió memorable per a mi. Agraïxo moltíssim al comitè encarregat de la nominació, als estaments rectors de la Universitat, al Senyor Rector, al degà de Ciències i al meu padrí que hagin fet l'esforç perquè se'm conferís aquest guardó que, com que és de la meua terra, encara em fa més goig que els que he rebut a d'altres institucions i en altres països. Jo he de dir que, com a científic experimental, malauradament no tinc la paraula florida del Dr. Gil, per tant no puc fer aquests discursos tan interessants, i el que faré serà una petita xerrada. De fet, la presentació del meu padrí ha estat molt acurada i, a més a més, ha explicat part del que jo us diré i pot servir d'introducció.

El títol d'aquesta lliçó és "Les bases moleculars del càncer", que com ha dit el meu padrí ha estat el meu tema de recerca en els últims disset anys.

El primer que m'agradaria que quedés clar és que el càncer és una malaltia genètica, no tant perquè sigui hereditària sinó perquè, és necessari per al creixement continuat, que les cèl·lules del tumor continuïn proliferant, ja que d'altra manera no es produiria el tumor. I perquè es produeixi aquest creixement continuat, es necessita una transmissió del caràcter tumoral des d'una cèl·lula cancerosa a les seves filles. Com ha dit el Dr. Bordons, perquè hi hagi una transmissió d'una cèl·lula, en aquest cas una cèl·lula tumoral a les seves filles, es necessita que hi hagi unes modificacions al material genètic, i el material genètic és el DNA, com molt bé ell ha dit. Per tant, aquesta modificació del material genètic que es necessita perquè es pugui transmetre el caràcter tumoral d'unes cèl·lules a les seves filles és el que fa, des d'aquest punt de vista, que el càncer sigui una malaltia genètica. El fonament del càncer és que hi ha alteracions genètiques i d'això és del que anirem parlant durant la resta de la lliçó.

Un altre concepte important és que les cèl·lules estan dirigides normalment per reguladors positius i negatius, com seria el cas de les cèl·lules que normalment creixen: les cèl·lules de la pell, les del moll de l'os, etc., etc. Ara bé, què és el que passa a les cèl·lules tumorals? Doncs, o bé hi ha un increment d'aquests reguladors positius, que aleshores rebrien el nom

d'oncògens, i la cèl·lula comença a proliferar incontroladament, o aquests es mantenen a nivells normals però es produeix una desaparició o una inactivació dels reguladors negatius. El resultat és el mateix: s'incrementa la proliferació cel·lular i dona lloc que es manifestin com a càncer.

Per centrar el tema, és important introduir aquí una definició del que podrien ser els oncògens. Els oncògens es podrien definir d'una manera vaga, perquè evidentment és una definició operativa, com aquells gens que tenen un paper en el control de la proliferació cel·lular normal, però l'alteració estructural o d'expressió d'alguns d'aquests gens fa que les cèl·lules que tinguin aquests gens alterats es predisposin a la transformació maligna. És una definició operativa perquè no és gaire precisa, el que passa és que s'ha anat veient al llarg del temps que diferents gens que no se sabia que podien ser oncògens, després, quan s'han alterat i s'han estudiat, s'ha vist que tenien aquesta capacitat de predisposar les cèl·lules a la transformació maligna i, per tant, han entrat en l'anomenada classificació dels oncògens.

És important fer palès que els oncògens en la seva manifestació normal, que s'anomenen protooncògens, són de fet gens molt importants en les funcions cel·lulars. És a dir, evidentment nosaltres no tenim aquests gens en totes les cèl·lules perquè es produeixi càncer, sinó que els tenim perquè són molt importants en el control de la proliferació cel·lular. En tenim alguns que són factors de creixement, altres que són receptors de factors de creixement, n'hi ha d'altres que són transductors de senyals, altres que són proteïnes citoplàsmiques que tenen també una funció de transducció de senyal, i n'hi ha uns altres que són factors de transcripció, és a dir, que el que fan és que s'expressin diferents gens que són necessaris per a les diverses funcions cel·lulars, i molts d'aquests gens, que ja dic que normalment tenen la missió de fer que la cèl·lula proliferi quan li toca, si s'alteren li provoquen que proliferi quan no li toca, i això pot desencadenar el càncer.

Com ha dit el meu padrí, el Dr. Bordons, quan jo vaig arribar a Nova York fa 21 anys, vaig començar a treballar amb la transferència gènica, que en aquell moment ho fèiem només per intentar, com ha dit ell molt bé, assolir la complementació, és a dir, si hi havia una cèl·lula que no tenia un gen específic, amb DNA purificat intentàvem introduir-lo i vèiem si això complementava el gen que li faltava. Ho vam aconseguir i això va ser l'origen de les meves investigacions. Aleshores, quan vaig obtenir la plaça de professor a la Universitat de Nova York, em vaig posar a treballar al meu grup aplicant aquestes tècniques de transferència gènica per al càncer.

Quan agafàvem DNA d'un tumor i l'extrèiem per mètodes químics, el precipitàvem amb fosfat càlcic, i el posàvem en unes cèl·lules que anomenàvem normals. Si hi havia algun oncogen amb aquest DNA, aleshores alguna cèl·lula l'agafava i canviava la seva morfologia. Aquest assaig era una de les maneres d'identificar que aquest DNA inicial, que provenia d'un tumor, realment contenia un oncogen.

Aquesta tècnica que nosaltres vam desenvolupar no solament es pot utilitzar per identificar que un DNA tumoral té oncògens, sinó que també la vam aplicar per dissenyar estratègies que permetien l'isolament dels oncògens, oncògens que no es coneixien, perquè ja dic que aquesta primera tècnica el que fa és identificar que un DNA té oncògens, però el que necessitàvem per continuar treballant era isolar-los, estudiar-los i caracteritzar-los molecularment. Això va ser part del treball durant els primers anys que érem a la Universitat de Nova York, entre el 80 i el 85.

El que vam trobar quan utilitzàvem aquelles tècniques per identificar i finalment isolar els oncògens és que, si comparàvem la seqüència d'un d'ells amb la que tenia un teixit normal, és a dir, si miràvem base per base el DNA, només hi havia una base diferent. El gen tenia a la zona codificant 189 aminoàcids que, multiplicat per tres bases per aminoàcid, fan 567 bases i només n'hi havia una que era canviada del protoncogen, és a dir, de la versió normal a l'oncogen. I això semblava que era suficient perquè aquest gen predisposés la cèl·lula que el contenia a transformar-se en maligna, és a dir, va ser un dels descobriments curiosos perquè nosaltres esperàvem que serien unes alteracions molt més fortes, però vam trobar que només amb una base de diferència era suficient perquè el gen es transformés de normal a oncogen.

Nosaltres i altres laboratoris d'arreu del món vam fer estudis en què buscàvem el DNA de tumors. Nosaltres treballàvem amb sistemes animals, però hi havia altres laboratoris que ho feien amb tumors humans, els analitzaven utilitzant aquestes tècniques i veien que tenien oncògens. Nosaltres estàvem convençuts que això era molt important per al càncer, però hi havia gent, i és saludable per a la ciència que hi hagi gent escèptica, que deia: bé el que heu trobat vosaltres són uns gens que estan mutats a una cèl·lula tumoral, però com sabeu que aquests gens no són simplement una conseqüència del procés tumoral que evidentment altera la cèl·lula?, o bé simplement el que s'anomena un passatger que accidentalment és una mutació que hi ha, però que no té res a veure amb l'origen del càncer? Llavors,

l'única manera d'intentar demostrar que aquests gens no solament estaven associats amb el càncer, sinó que n'eren l'origen, era intentar reproduir el tumor en un animal introduint-li l'oncogen a totes les cèl·lules. Això requeria una manipulació genètica, s'agafava el DNA de l'oncogen, era injectat a ous fertilitzats de ratolí i es reimplantaven a un ratolí femella que estava preparada hormonalment. Després de la gestació tenia diversos ratolins, dels quals un percentatge, que normalment és entre un 10% i el 30%, havien incorporat aquest gen que li havíem injectat. Això s'analitzava molecularment per identificar els animals d'aquesta camada que tenien el gen estudiat i es vigilava els que eren positius per a l'oncogen, per veure si els sortia algun tumor o no. He de dir que si dels animals que hi ha a la camada només tres tenen l'oncogen i els altres no tenen res, aquests últims són uns controls perfectes perquè l'única diferència genètica entre els animals que no tenen l'oncogen i els que el tenen és precisament aquest gen. Així, doncs, són exactament iguals i viuen en les mateixes condicions, etc.

Vam trobar que als animals que tenien l'oncogen se'ls desenvolupaven de manera espontània tumors. Per tant, no solament havíem aconseguit veure que els oncògens eren una cosa que es correlacionava molt des del punt de vista estadístic amb la presència de càncer, sinó que només afegint al material genètic d'un animal aquest gen es produïen de manera espontània i amb una incidència elevada tumors en els animals. I a més a més, segons com es manipulés el gen, no solament es produïen tumors sinó que eren el mateix tipus de tumors que aquells d'on havíem isolat nosaltres l'oncogen, i per tant d'alguna manera es tancava el cercle que demostrava que aquests gens tenien un paper molt important en l'origen del càncer.

De totes maneres, hi havia algunes observacions que no encaixaven, sobretot una que ja feia molts anys que s'havia fet, en la qual si algú fusionava cèl·lules tumorals amb normals, molt freqüentment les cèl·lules, en lloc continuar sent tumorals, es transformaven en normals. Encara que no ho he aclarit abans: els oncògens actuen de manera dominant, és a dir, que si un té una cèl·lula normal i hi introdueix el DNA d'un oncogen, la cèl·lula es transforma. Aleshores, si això fos l'única cosa important en el càncer, quan es fes aquest experiment de fusió entre una cèl·lula tumoral que tingués alguns oncògens activats amb una de normal, el resultat hauria de ser una cèl·lula tumoral, i el que sortia era el contrari. Llavors, el que deia era que hi ha no solament gens dominants que quan estan activats produeixen càncer, sinó que en les cèl·lules normals hi ha uns gens que tenen funcions de

reguladors negatius i que es necessiten les dues coses, que s'activin alguns oncògens, però també que s'inactivin alguns gens supressors de tumors. A la fusió la cèl·lula tumoral aportava els oncògens activats, però la cèl·lula normal aportava els seus gens supressors de tumors i això era suficient perquè el fenotip resultés normal. Això, evidentment, va comportar el desenvolupament d'una altra branca de l'estudi de l'oncologia molecular, que és l'estudi dels gens supressors de tumors.

Els gens supressors de tumors són aquells conjunts de gens que controlen d'una manera inhibidora, és a dir, reprimint la proliferació cel·lular i la inactivació dels seus dos al·lells que predisposa la cèl·lula a la transformació maligna. Cada cèl·lula té dues còpies, anomenades al·lells de cada gen, una del pare i una altra de la mare. Amb els oncògens, només que tinguis una còpia alterada és suficient per predisposar la cèl·lula al creixement tumoral, però dels gens supressors de tumors, com que són inhibitoris, el que es necessita és que les dues còpies s'inactivin perquè les cèl·lules quedin predisposades a la transformació maligna. Aquesta és l'altra branca de l'equació que explica el càncer.

La mecànica inicial per estudiar-la és semblant a la dels oncògens, s'estudien els tumors i es veu que hi ha gens que estan inactivats. Però ¿com demostrarem que això no és només una correlació o no és una cosa accidental i que no és el resultat sinó la causa del càncer? Altra vegada hem de recórrer a la manipulació genètica, i el que es fa aleshores és inactivar el gen d'interès. Per això es fa una recombinació homòloga que inactiva un dels dos al·lells en una cèl·lula que s'anomena cèl·lula troncal. Aquesta cèl·lula és capaç, amb la manipulació genètica adequada, de produir un ratolí sencer. Aleshores aquest ratolí té un dels dos gens inactivats a totes les cèl·lules, i quan es creuen dos ratolins d'aquests, per les lleis de Mendel, una quarta part tindrà els dos al·lells inactivats. Quan es van fer aquests estudis amb els gens supressors de tumors, es va demostrar que els animals que tenien inactivades les dues còpies d'un gen supressor de tumor desenvolupaven un nombre elevat de tumors. No solament això sinó que es va estudiar aleshores en humans i es va veure que hi havia càncers familiars en què la primera cosa que es trobava era que hereditàriament hi havia una còpia alterada, i quan la descendència d'aquestes persones desenvolupava tumors, es veia que tenien l'altra còpia inactivada. És a dir, es va poder comprovar que tant al laboratori com a la vida real aquesta era la segona branca que ens faltava per poder explicar les alteracions genètiques que produïen el càncer.

De moment s'han isolat un centenar d'oncògens, o sigui que al voltant de cent gens fan unes funcions molt importants que si s'alteren és possible que es produeixi un càncer. En alguns casos com c-myc al limfoma de Burkitt o el bcr-abl a la leucèmia mieloide crònica, el 100% dels malalts han de tenir una alteració d'aquests gens, però en molts altres tipus de tumor hi ha un percentatge més gran o més petit d'alteracions d'aquests oncògens. El que passa és que hi ha una combinació d'alteracions en oncògens i gens supressors de tumors en tots els càncers, si bé encara no s'ha identificat la combinació precisa de gens en cada tipus tumoral. Des del punt de vista epidemiològic, es creu que es necessiten de quatre a sis alteracions genètiques a la cèl·lula perquè es desenvolupi com a tumor. Això són bones notícies perquè si només calgués una alteració genètica, seria molt fàcil que una persona tingués càncer.

Tot això que hem estat dient és la patogènia del càncer, com s'anomena en termes tècnics. És a dir, el mecanisme molecular del càncer és la suma de l'acumulació d'alteracions genètiques en els oncògens i en els gens supressors de tumors. Això és el més important de la lliçó, és a dir, que el càncer es produeix per una suma d'alteracions en aquests grups de gens. Si les alteracions es produeixen en els tipus de gens adequats, que són diferents per cada tipus cel·lular i en el nombre adequat, es pot produir el càncer.

Aquests estudis no solament han servit per a això, és a dir, per demostrar que els mecanismes moleculars del càncer són les alteracions en els oncògens i en els gens supressors de tumors, sinó que, com he dit a la part primera de la lliçó, ens han indicat com s'alteren aquests gens, bé com s'activen els oncògens o bé com s'inactiven els gens supressors de tumors, per mutacions. Això també serveix per demostrar, i d'alguna manera comprovar, l'etiologia o les causes del càncer, perquè tots els agents que tinguin capacitat de produir alteracions genètiques, mutacions, en els oncògens o en els gens supressors de tumors són potencialment causes de càncer. Per exemple se sap que al tabac hi ha carcinògens químics que produeixen aquestes alteracions dels gens i poden provocar el càncer. Per altra banda, el sol, per la radiació ultraviolada, si la pell no té la protecció adequada, és un altre mutagen ambiental conegut, així com el tipus d'alimentació, amb greix, etc. etc. És a dir, que els mutàgens, tant els naturals (radiació solar o alguns aliments que tenen carcinògens o mutàgens naturals) com els artificials (compostos químics que es produeixen en el tractament dels aliments o bé compostos químics derivats d'alguna reacció química de productes

industrials) són possibles causes del càncer, i per tant cal vigilar per no entrar-hi en contacte.

Per a què ha servit tot això de l'estudi dels oncògens, a banda que és molt important aclarir quins són els mecanismes de la patogènia i l'etiologia del càncer? Evidentment, ja avui dia s'utilitza per al diagnòstic del càncer. Com he dit abans, en la leucèmia mieloide crònica hi ha una translocació del cromosoma 9 al cromosoma 22 que canvia l'estructura d'un oncogen (bcr-abl); si no es troba aquesta translocació amb l'oncogen bcr-abl no es pot diagnosticar que aquest malalt en pateixi. Encara que clínicament ho sembli, si no té aquesta alteració genètica molecular no té una leucèmia mieloide crònica. A vegades s'ha utilitzat per fer un diagnòstic de recaiguda abans que hi hagi símptomes, per exemple, amb les tècniques modernes, ja que es pot diagnosticar si hi ha un oncogen en una cèl·lula tumoral entre mig d'un milió de cèl·lules normals; per tant, dona molta sensibilitat al diagnòstic que abans no es podia tenir, perquè no es coneixien les alteracions moleculars. També s'utilitzen les alteracions moleculars dels tumors per fer un pronòstic més acurat de la malaltia.

El repte que tenim és utilitzar tots aquests coneixements per a la teràpia del càncer. Això és el que estem començant, ja que hi ha diversos temes que explorem. Jo de l'únic que parlaré serà dels inhibidors de la farnesil transferasa perquè l'últim any i mig ho hem treballat al laboratori.

Utilitzem com a sistema model uns ratolins transgènics als quals surten tumors de mama perquè tenen un oncogen activat, el ras, aquest en què nosaltres treballem. Si aleshores dissenyem una molècula química que inhibeix l'acció d'aquest oncogen, la podem utilitzar per estudiar la seva eficàcia antitumoral en els ratolins transgènics. Designem dos grups de ratolins, els que estan tractats amb vehicle, és a dir, no tractats amb la droga sinó amb els controls, en els quals el tumor continua creixent i els acaba matant. En l'altre grup de ratolins, germans dels controls, quan el tumor té cent mil·límetres cúbics de volum, se'ls dona aquesta droga que inhibeix l'acció de l'oncogen ras, precisament el que ha desencadenat la producció del tumor. Els tumors no creixen i l'animal continua vivint tranquil·lament. Això és el començament del que anomenaríem les teràpies de disseny del càncer perquè no solament intenten matar les cèl·lules que creixen, que és el més normal amb la quimioteràpia o la radioteràpia, sinó que se'ls dona un producte que se sap que específicament contraresta l'alteració molecular que comporta aquest tipus de tumor. Evidentment, això de moment només

s'aplica a ratolins però, és clar, la companyia farmacèutica que treballa amb nosaltres (Merck) està intentant portar-ho a l'aplicació clínica.

L'últim concepte relacionat amb això, però més futurista, s'anomena teràpia gènica del càncer. Coneixent quines són les alteracions genètiques que tenen les cèl·lules tumorals, la teràpia gènica del càncer té com a objectiu afegir a la cèl·lula gens que, o bé bloquegin l'acció dels oncògens, o afegixin un gen supressor de tumor que ara no està funcionant perquè està inactivat. Per tant, compensar les alteracions que hi ha a les cèl·lules tumorals. Aquest és l'objectiu a llarg termini, i evidentment ja hi ha protocols que hi estan treballant, però encara està al començament. Aquest és l'objectiu final: que es pugui tractar el càncer utilitzant els mecanismes que el produeixen. Com que la causa són unes alteracions genètiques específiques, que el puguem curar corregint aquestes alteracions genètiques a la cèl·lula tumoral també específicament.

Moltíssimes gràcies per la vostra atenció.