

El ciclo celular y el Premio Nobel de Medicina 2001

Jorge Vázquez Ramos*

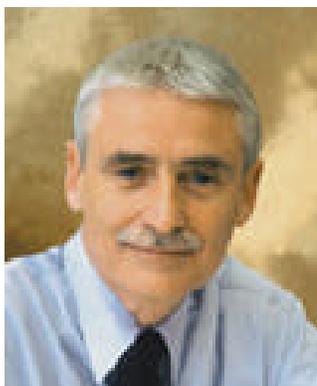


Figura 1. Leland Hartwell, nacido en 1939. Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, EUA. Tomada de: <http://www.nobel.se/medicine/laureates/2001/illpres/hartwell.html>

Las células de todos los organismos, unicelulares o pluricelulares, se multiplican cumpliendo con una premisa básica: el material genético o ácido desoxirribonucleico (ADN) debe de ser primero duplicado y posteriormente repartido entre las células hijas, cuando la célula madre se divide en dos. Otra premisa que debe cumplirse es que a cada una de las células hijas le tiene

que tocar un ADN idéntico al que tenía la célula madre. A este proceso se le llama Ciclo Celular, el que garantiza la continuidad de las células a través del tiempo, a partir de permitir que el material hereditario se reparta fielmente en cada generación. Este material hereditario, o genético, está conformado por genes, los que contienen la codificación para todas las funciones proteicas en una célula. Esto es, un gen representa una proteína o una función proteica y cada célula de una misma especie contiene el mismo número de genes. Así, las 10^{13} células de un cuerpo humano contienen, cada una, la misma cantidad de ADN y de genes.

Para las células procariotes, como las de las bacterias, el ciclo celular es un proceso relativamente (y sólo relativamente!) simple. El ADN está “suspendido” en el citoplasma celular y el proceso de la duplicación del ADN se acopla al de división celular, de forma tal que si el aporte nutritivo es adecuado y no hay en el medio ambiente ningún factor que

impida la proliferación, las células crecerán y se multiplicarán indefinidamente.

Las células eucariotes, a diferencia de las procariotes, poseen estructuración y organización celular más complejas; precisamente se llaman eucariotes porque presentan un núcleo que contiene al material genético. Esto significa que el ADN eucariote está separado del citoplasma celular. Por lo tanto, la división celular en eucariotes involucra también la división del núcleo. Desde hace muchas décadas se había observado que los periodos activos del ciclo celular eran aquellos en que ocurría la duplicación del ADN (Fase S, de síntesis) y en el que se daba la repartición del ADN entre las células hijas (Fase M, de mitosis). Entre cada uno de estos dos periodos había, intercalados, momentos de una cierta inactividad celular, al menos desde el punto de vista de lo que al ADN le pasara, a los que se llamó Fase G (de *gap* o hueco); así, había una fase G1 que precedía la fase S y un periodo G2 que precedía a la fase M. Siendo el ciclo celular precisamente un ciclo, entonces en una proliferación continua, a la fase M le sigue una fase G1, luego una S, una G2, M y vuelta a G1.

Pero las fases G no son simples estados de pereza o de descanso celular; son las etapas en las que se coordinan la percepción del medio externo celular, con la posibilidad de crecimiento y entonces de duplicación y segregación del material hereditario. Visto así, en las fases G se establece la regulación de la proliferación celular, o del ciclo celular, en las que radica la enorme responsabilidad de decidir si las condiciones de proliferación son propicias y aún más, si aunque fueran propicias se debe de proliferar.

Es precisamente al estudio de los mecanismos moleculares que determinan la regulación del ciclo celular, empezando por entender cómo es que se inicia, al que el jurado del Premio Nobel en el Instituto Karolinska de Suecia le confiere el Premio Nobel de Fisiología y Medicina. El doctor Leland Hartwell, del Fred Hutchinson Cancer Research Center, en Seattle, y los doctores Tim Hunt y Paul Nurse, del Imperial Cancer Research Fund, de Londres han sido galardonados por sus descubrimientos seminales sobre los factores y mecanismos molecu-

* Departamento de Bioquímica, Facultad de Química, UNAM. México 04510 D.F.
El presente artículo fue solicitado por el Director de *Educación Química*.

lares que han resultado ser fundamentales para el entendimiento de la regulación del ciclo celular. A partir de los resultados publicados por estos tres investigadores, los estudios en esta área se incrementaron vertiginosamente.

Los descubrimientos de Hartwell, Hunt y Nurse involucran genes que codifican proteínas cuya función se ha demostrado como determinante en el control de las diferentes fases del ciclo celular en todos los organismos eucariotes, desde levaduras y plantas hasta humanos.

Leland Hartwell (nacido en 1939) fue un pionero de los estudios del ciclo celular desde una aproximación genética a partir del principio de los años setenta. Usando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como modelo (la levadura del pan), obtuvo y estudió una gran cantidad de mutantes que manifestaban defectos en el proceso del ciclo celular, a las que llamó *cdc*, por *cell division cycle* o mutantes en el ciclo de la división celular. Evidentemente, cada una de estas mutaciones significaba la alteración en un gen, el que por lo tanto codificaría para una proteína defectuosa o incluso ausente, que era la causante del comportamiento anómalo celular. Entre las múltiples mutantes, una en particular llamó su atención dado el fenotipo que mostraban las células crecidas bajo condiciones en que se expresaba la mutación, en el que las células detenían su crecimiento sin dar indicios de que comenzara el ciclo. El razonamiento siguiente fue el postular que había genes (codificantes de proteínas) que deberían definir el inicio del ciclo celular, acuñando el término de “Start” como un proceso bioquímico que debería ocurrir para que el ciclo comenzara. La mutante estudiada era la *cdc28*, esto es, era la cepa de levadura con defectos en el ciclo celular número 28, por lo que el gen mutado en esta cepa de levadura recibió el nombre de *Cdc28*. Más adelante veremos que el gen *cdc28* es el equivalente al descrito por Paul Nurse en otro tipo de levaduras y por lo tanto se involucra a la misma función proteica.

A partir de los resultados obtenidos con su colección de mutantes, Hartwell también sugirió que los eventos durante el ciclo deberían estar organizados en una secuencia dependiente de pasos; esto es, la duplicación del DNA tendría que terminar antes de que se estableciera la fase G2 o bien la mitosis. Pero esto podría ocurrir, al menos, de dos maneras: a) que la activación (o inactivación) de una fase del ciclo dependiera del accionar de la fase anterior y que los

productos de ésta fueran los inductores de la siguiente fase; b) que los eventos del ciclo fueran controlados por una vía secundaria y paralela, la que sólo actuaría en aquellos casos en que el ciclo se bloqueara en alguna fase, inhibiendo el establecimiento de la fase siguiente. Lo anterior implicaba que debería ser posible aislar mutantes cuyo efecto fuera romper la dependencia que una secuencia de eventos tiene de la secuencia anterior; i.e. que la mitosis ocurriera aún cuando no hubiera ocurrido duplicación de ADN. Estas mutantes fueron encontradas, de tal forma que la acción del producto mutado provocaba fenotipos en los que se rompía totalmente la secuencia dependiente de eventos durante el ciclo. Esta vía paralela de regulación y vigilancia de la dependencia de los diferentes eventos durante el ciclo fue designada por Hartwell como “Checkpoint” o Punto de Verificación.

Paul Nurse (nacido en 1949) participó también en el trabajo genético en la búsqueda de mutaciones que afectaran al ciclo celular (mutantes tipo *cdc*). Sin embargo, la levadura utilizada por Nurse fue *Schizosaccharomyces pombe*, no muy relacionada a *S. cerevisiae* y que de hecho se separó de ésta muy temprano en la evolución. Hacia mediados de los setentas, Nurse descubrió el gen *cdc 2* en *S. pombe* y encontró que su mutación provocaba la detención de las células en un estado previo a la división celular; esto es, las células se detenían en la transición de G2 hacia M. Más tarde, ya en los ochenta, encontró que la secuencia del gen *cdc 2* era muy semejante a la secuencia del gen *cdc 28* de *S. cerevisiae*, reportado con anterioridad por Hartwell; esto es, el gen que definía el proceso de Start. Ambas secuencias génicas presentaban segmentos de codificación para aminoácidos presentes en proteínas con actividad de cinasa (enzimas que modifican por fosforilación a otras proteínas). La actividad de proteína cinasa en las co-



Figura 2. Paul Nurse, nacido en 1949. Imperial Cancer Research Fund, Lincoln's Inn Fields, London, UK. Tomada de: <http://www.nobel.se/medicine/laureates/2001/illpres/nurse.html>

respondientes proteínas fue poco después demostrada y más aún, se encontró que la proteína Cdc28 (codificada por el gen *cdc28*) de *S. cerevisiae*, así como la proteína Cdc2 (codificada por el gen *cdc2*) de *S. pombe*, actuaban tanto para regular la transición G1 hacia S, como también la transición G2 hacia M. La regulación de la actividad de la misma proteína cinasa en etapas diferentes del ciclo se debía a la presencia de proteínas acompañantes, llamadas ciclinas, diferentes en cada etapa del ciclo, que le daban la orientación debida y que se describirán más adelante.

Otro aspecto importante de la investigación realizada por Nurse fue el de aislar en 1987 el gen correspondiente a *cdc2* en humanos y que abrió las puertas a la búsqueda y hallazgo de genes *cdc2* en todo organismo eucariote estudiado, lo que contribuyó a hacer evidente la universalidad del ciclo celular. Sorprendentemente, el trabajo de investigación con modelos animales y en general de organismos pluricelulares (los que forman tejidos), buscando homólogos al gen *cdc2*, permitió el descubrimiento de múltiples formas de genes tipo *cdc2*, codificantes para proteínas semejantes, mas no iguales, a Cdc2. Como en el caso de levaduras, las diferentes proteínas tipo Cdc2 se asociaban con proteínas ciclinas distintas, por lo que fue necesario cambiar la nomenclatura de la proteína Cdc2 por la de Cdk, que quiere decir cinasa dependiente de ciclina (*Cyclin dependent kinase*). El nuevo nombre de la proteína Cdc2 (o de Cdc28) fue ahora Cdk1 y existen al menos otras ocho formas diferentes de Cdk.

Nurse demostró adicionalmente que Cdk1 no sólo controlaba eventos del ciclo celular mediante su acción enzimática de fosforilar a distintas proteínas, modificando así su actividad o localización, sino que ella misma era regulada por fosforilación por otra serie de proteínas cinasas y, más aún, por desfosforilación por proteínas que remueven fosfatos de los aminoácidos, o fosfatasas. Cdk1 contiene en su estructura proteica al menos cuatro sitios de fosforilación. La fosforilación de algunos residuos de aminoácidos inhibe la actividad de cinasa de Cdk1, los que tendrán que ser desfosforilados por una fosfatasa, conjuntamente con la fosforilación de al menos otro aminoácido, para su activación.

En otra línea de investigación, el uso de modelos biológicos como los huevos de invertebrados marinos y de anfibios que eran madurados, *in vitro*, hasta la etapa previa a la fertilización mediante la adición

de hormonas, fue muy útil para demostrar la inducción, durante la maduración, de una serie de proteínas con un tiempo medio de vida corto. La inyección de extractos proteicos de estos huevos a huevos inmaduros (en ausencia de hormonas), también provocaba su maduración, por lo que se intuyó que en estos extractos existía un Factor Promotor de la Maduración o MPF (*Maturation Promoter Factor*) que era finalmente el responsable directo de la acción hormonal.

Tim Hunt (nacido en 1943) experimentaba, al principio de los años ochenta, con huevos de invertebrados marinos con la intención de conocer procesos moleculares involucrados con su fertilización. Lo que descubrió fue la inducción prominente de una proteína durante la fertilización, que desaparecía abruptamente según las células entraban a la fase M, sólo para reaparecer durante el siguiente ciclo celular. A esta proteína que presentaba una variación cíclica le llamó ciclina. La conducta de la proteína caracterizada por Hunt era muy semejante a la forma en que se activaba MPF durante la maduración de huevos de invertebrados marinos o de anfibios. La comprobación se dio cuando se desarrollaron sistemas de embriogénesis *in vitro*, mediante los cuales se pudo inhibir la producción de la ciclina endógena y de esta manera la embriogénesis, sólo para recuperar el proceso mediante la adición exógena de nueva proteína ciclina. Para este tiempo, finales de los ochentas, otros investigadores, entre ellos Paul Nurse, demostraban que MPF estaba formado por dos proteínas, una de las cuales era Cdc2. La otra proteína resultó ser una ciclina, como las que Hunt había descrito.

Los estudios de Hunt le llevaron a descubrir ciclinas en todo eucariote estudiado; más aún, demostró la conservación de secuencia que había entre estas proteínas en diferentes especies, por lo que era evidente que se habían conservado durante la evolución. En la actualidad se conoce que todos los eucariotes tienen un número considerable de ciclinas diferentes, entre 7 y 12, las que al combinarse con sus respectivas cinasas (Cdks), regulan las diferentes etapas del ciclo celular. El mecanismo de acción involucra la fosforilación de proteínas de manera sitio-específica. Es importante agregar que ninguna Cdk tiene actividad enzimática sin la correspondiente ciclina. Otro descubrimiento que surgió del conocimiento de las ciclinas fue el de la importancia que tiene su degradación, al igual que la de otras proteínas del

ciclo, en el momento adecuado, de tal forma que mediante el proceso de la eliminación de proteínas clave se le da direccionalidad al ciclo celular.

Los descubrimientos de Hartwell, Nurse y Hunt, al haber puesto de manifiesto la trascendencia del par ciclina-cinasa como el elemento básico para la regulación del ciclo celular, pusieron los cimientos para los estudios profusos que han seguido sobre la mecánica, muy compleja, del control del ciclo celular, especialmente debido a la importancia que tiene el cáncer humano como una de las enfermedades más devastadoras y de difícil curación. Ahora es bien sabido que una de las causas primarias del cáncer es la mutación en genes cuyos productos proteicos tienen como funciones primordiales la percepción celular de las condiciones externas que inducen proliferación, o bien el control de la proliferación *per se*. En este particular caso, varias de las

proteínas mutadas son precisamente inhibidoras de Cdk's, de tal forma que no existe control sobre el proceso proliferativo. Tampoco es sorprendente que mutaciones en genes que codifican para proteínas ciclinas se encuentren entre aquellas asociadas a desarrollos tumorales.

El número de proteínas que participan en el ciclo celular ha ido en constante aumento y se pueden contar por cientos. La interrelación que existe entre ellas —y por lo tanto entre los diferentes procesos regulatorios que definen al ciclo celular— se ha vuelto en extremo compleja. El entendimiento formal de todas estas interacciones deberá, en el futuro cercano, ofrecer nuevos métodos para la terapia del cáncer. Por lo pronto, los métodos de diagnóstico se han vuelto más sencillos y precisos y se intenta, en pruebas clínicas, usar inhibidores de Cdk's como principio terapéutico. Los descubrimientos de Hartwell, Nurse y Hunt han revolucionado la manera en que se ve ahora a las células. ▀

XVII Conferencia de Química

4 al 6 de diciembre de 2002

Santiago de Cuba, Cuba

El Departamento de Química de la Universidad de Oriente le invita a participar en nuestra ya tradicional Conferencia de Química, que tendrá lugar en Santiago de Cuba, y que es patrocinada por la Sociedad Química Cubana.

Temas

- Química Orgánica
- Química Inorgánica
- Físicoquímica
- Química Analítica
- Biotecnología
- Educación Química
- Ingeniería Química
- Química y Medio Ambiente

Taller sobre Educación Química

previo a la Conferencia: 3 de diciembre

Más información

Lic. Marieta Gómez Serrano
XVII Conferencia de Química
Departamento de Química
Universidad de Oriente
Santiago de Cuba
Cuba, 90500

Teléfono: (53) 226 63 30 11, ext. 396

Fax: (53) 226 63 26 89

E-mail: mgomez@chem.uo.edu.cu

<http://www.uo.edu.cu/eventos/17acq/index.html>

Tarifas de inscripción (USD)

- Delegado \$ 130
- Estudiantes \$ 80
- Taller \$ 30