

QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLASICA III. EL CICLO CELULAR.

J. GUILLERMO ORDORICA VARGAS*
RICARDO YÁÑEZ AVILA*

INTRODUCCIÓN

En un trabajo previo se indicaba la necesidad de conocer las características bioquímicas de las células neoplásicas, como requisito indispensable para una terapia racional del cáncer (Yáñez y Ordorica, 1978). Para complementar es necesario considerar también las características que presenta la cinética de las proliferaciones celulares involucradas, tanto por parte del tumor como del hospedero. En un intento por avanzar en este aspecto. Howard y Pelc describieron, en 1951, lo que hoy conocemos como ciclo celular, mitótico, vital, nuclear o generacional.

Una de las bondades del conocimiento del ciclo celular, es que sobrepone un parámetro temporal, aunque en forma de mediana, a una serie de procesos bioquímicos (síntesis del DNA) particulares de la función de replicación celular. La inhibición de los procesos moleculares conducentes a un DNA funcional ha sido desde hace mucho el objetivo de los químicos orgánicos interesados en la síntesis de agentes potencialmente antineoplásicos (Skipper, 1971).

El conocimiento de las características diferenciales del ciclo celular normal y neoplásico podría abrir la posibilidad de su aprovechamiento con fines terapéuticos.

El Ciclo

Se le ha definido como el intervalo entre el punto medio de la mitosis de una célula y

el punto medio de la siguiente mitosis en las dos células hijas (Baserga, 1971).

El ciclo básico se integró por cuatro compartimentos, que incluyen: la mitosis (M), una fase previa a la síntesis del DNA (G_1), una de síntesis de DNA (S), y una posterior a la síntesis de DNA (G_2). En las células que crecen en forma exponencial, cada compartimento tiene una duración más o menos fija (Tabla 1). Las poblaciones celulares pueden dejar de dividirse o hacerlo muy lentamente; en tales casos se dice que se encuentran en periodos G_1 o G_2 prolongados (periodos de reposo) o en un compartimento de células fuera del ciclo (G_0), las que pueden regresar a él en caso necesario (Fig. 1).

Algunos de los procesos bioquímicos principales del ciclo celular son:

Fase G_1 Se reorganizan los polisomas después de M, utilizando el RNAm existente.

Aumenta la síntesis de proteínas con relación a M.

En G_1 temprana se inicia la síntesis de RNA. Se pueden inducir ciertas enzimas en G_1 tardía, pero no en la temprana. Síntesis de proteínas cromosómicas no histónicas (recambio acelerado con relación a S).

Fase S Continúa la síntesis de RNA y proteínas

Se sintetizan histonas

Síntesis de proteínas cromosómicas no histónicas (recambio más lento que en G_1 , G_2 y M)

Síntesis de DNA

Fase G_2 Continúa la síntesis de RNA y proteínas (ambas disminuyen al aproximarse a M)

Síntesis de proteínas cromosómicas no his-

* Departamento de Farmacología, Sección de Graduados de la Escuela Superior de Medicina del Instituto Politécnico Nacional. México (17), D.F.

* Becario de la COFAA-DEDICT

tónicas (recambio acelerado con relación a S).

Fase M No hay síntesis de RNA

Disminuye la síntesis de proteínas

Desorganización de los polisomas

Síntesis de proteínas cromosómicas no histónicas (recambio acelerado con relación a S; algunas son específicas de la fase M).

Ensamblaje de los microtúbulos para las fibras del huso

En muchas células hay cambio en la densidad de carga negativa de la superficie

Cae la concentración de AMPc.

Las células de los mamíferos responden a los agentes físicos o químicos según su posición en el ciclo celular ya que en éste una serie de acontecimientos bioquímicos tiene como resultado un mecanismo de control altamente integrado. Desde el punto de vista de la quimioterapia del cáncer la respuesta que más nos interesa es la supervivencia de la célula cancerosa, definiendo supervivencia como la capacidad de tales células para proliferar indefinidamente (Humprey y Barranco, 1975).

La actividad de una sustancia sobre determinada célula es modulada por muchos factores entre los que destacan la permeabilidad de la membrana, modificación del fármaco a una forma activa o inactiva, su transporte hasta el sitio de acción, la interacción con las moléculas receptoras, la respuesta molecular subsecuente, y la capacidad de la célula para reparar el daño molecular y continuar su división. Muchos de estos factores cambian según la etapa del ciclo celular.

Modelos

Con el desarrollo de un método cuantitativo directo y sencillo para medir la supervivencia en cultivos de células de mamíferos sujetos a radiaciones (Puck y Marcus, 1956), se abrió la posibilidad de estudiar el efecto de los quimioterápicos sobre las células cancerosas ya que el procedimiento es adaptable a casi todas las células de mamíferos y a los diversos tipos de agente agresor; además, proporciona datos cinéticos precisos sobre la eficiencia de las ra-

daciones o los fármacos para matar a las células.

Con este método ha sido posible demostrar en muchas líneas celulares que la fase del ciclo celular más sensible a las radiaciones X es la M en tanto que la S es la más resistente (Terasima y Tolmach, 1961; Frindel y Tubiana, 1971). En el caso de las mostazas nitrogenadas y azufradas, se encontró que la etapa S es la más sensible, y las G₁ y G₂ las más resistentes (Walker y Helleiner, 1963).

Se sabe que *in vivo*, tanto los tejidos normales como los tumorales presentan poblaciones celulares que no se dividen (Go) y otras que sí lo hacen. De las primeras, que también se encuentran en el ciclo celular, se pueden obtener clonas.

En cultivo de tejidos se ha desarrollado un método para obtener poblaciones que no se dividen; está basado en hacer crecer células hasta el estado de "meseta" o "fase estacionaria" (Hahn y Little, 1972). Cuando se inoculan los medios de cultivo, se observa un periodo "lag" o de latencia; la mayoría de las células empiezan entonces a multiplicarse en forma exponencial con un tiempo de duplicación muy parecido a la duración del ciclo celular. En cierto momento, la velocidad de multiplicación disminuye y el ciclo celular comienza a declinar, según se desprende de las mediciones del número de células involucradas en la síntesis de DNA y en la mitosis. La cantidad de células permanece constante y su viabilidad es parecida a las de las células que no se dividen *in vivo*. Por tanto, estas células de meseta pueden considerarse como un modelo razonable de células que no se dividen y en ellas se puede cuantificar la actividad de los fármacos en forma similar a como se hace con las células que se encuentran marchando sincronizadamente por el ciclo.

Ejemplos de quimioterápicos que afectan el ciclo celular

El primer ejemplo de efecto letal específico sobre una etapa del ciclo celular fue la hidroxurea (HU); se demostró (Sinclair 1965) que la HU mataba a las células CH en etapa S sin afectar a las que estaban en G₁ o

G₂. Más adelante se trataron células CHO con HU; en las condiciones del estudio, el 60% estaba en etapa S, y fue esa fracción la que mató el fármaco, la población que no se estaba dividiendo no fue afectada por la HU. Esto permitiría, al ampliar los estudios, predecir que los tumores humanos con una pequeña fracción de sus células en crecimiento o una gran población en G₀ no responderán a la quimioterapia con HU.

La bleomicina, es un agente muy efectivo contra las células que no se dividen y contra las que sí lo hacen. La efectividad en orden creciente es G₁, S tardía, S temprana, G₂ y M (Barranco, Novak y Humprey, 1973); aunado a esto, los datos de los estudios con células en meseta sugieren que de acuerdo con el modelo que las toma como equivalentes de G₀, la bleomicina es un agente efectivo para matar células que no se dividen pero que conservan la potencialidad de hacerlo y repoblar un tumor; esto ha sido confirmado con el sistema tumoral EMT6 (Hahn, Ray, Gordon y Kalman, 1973), lo que ha dado pie a que se clasifique a este fármaco como letal de preferencia para células que no marchan en el ciclo. Resultados similares se han reportado con células de melanoma y linfoma humanos (Drewinko, Novak y Barranco, 1972); se ha visto que después de matar a las células que se encuentran en crecimiento exponencial, la continuación del tratamiento produce resistencia; pero si se suspende el tratamiento, ésta disminuye y la reanudación de las dosis ejerce efecto letal sobre las células viables remanentes; por tanto, en la terapéutica humana, la proposición de un tratamiento continuo sería perjudicial (Terasma y cols., 1972).

La adriamicina es un quimioterápico que mata células, en todas las fases del ciclo, es muy tóxico para las células en crecimiento exponencial y relativamente menos efectivo para las células en G₀ (supervivencia del 4%) (Barranco y Novak, 1974). Se ha dicho que puede considerarse más útil que la bleomicina, ya que al parecer el tratamiento continuo no afecta su eficacia.

Se ha podido demostrar que tanto las células

en división (Mauro y Elkind, 1968) como las que no lo están (Barranco, Novak y Humprey, 1973), pueden reparar con facilidad los daños subletales que les ocasionan los quimioterápicos de diferente tipo, lo que podría contribuir a la recidiva de los tumores *in vivo*.

Bloqueo del ciclo por los quimioterápicos.

Cada sustancia puede bloquear a las células en etapas específicas del ciclo, según su mecanismo de acción; por ejemplo, un fármaco que inhiba la síntesis de DNA evitará que las células inicien la replicación del DNA de tal forma que las bloqueará en G₁ temprana o reducirá la velocidad de replicación y las detendrá en S. Por tanto, cuando se administra un quimioterápico a una población celular, la cinética de la misma se altera, lo que ocasiona que la población superviviente presente un patrón de respuesta diferente; de aquí se infiere que la acción de un segundo agente es influida por la del primero y así sucesivamente.

En la figura 2 se presenta un esquema del bloqueo ejercido por ciertos fármacos anti-neoplásicos en las diversas etapas del ciclo celular. El grupo encabezado por la ametopterina está formado por sustancias que inhiben la síntesis del DNA; evitan que las células entren o abandonen la etapa S. La mayoría de los agentes conocidos caben en este grupo aunque pueden bloquear también en otros puntos; por ejemplo la actinomicina D que bloquea en G₂ temprana. Otros agentes son muy específicos en el bloqueo que producen; por ejemplo, la colchicina que inhibe la mitosis y la L-O-etiltreonina inhibe la iniciación de la síntesis del DNA.

Consideraciones prácticas

El conocimiento de los datos cinéticos de las líneas tumorales que afectan al humano es indispensable para poder hacer una quimioterapia racional, por ahora, baste recordar el concepto de que el tiempo de duplicación de muchos tumores aumenta en forma paralela con la masa celular, de tal forma que el

número total de células es el resultado de esta proliferación celular, cada vez más lenta, y la pérdida por lisis, cada vez más rápida. Esto no quiere decir que el tumor deje de crecer sino que en su seno se encuentra un número cada vez mayor de células que no se dividen. El quimioterapeuta necesita saber cuántas células pasan por la fase S en la unidad de tiempo y cuántas están en $G_2 + M + G_1$ y aún las que se encuentran en G_0 . Si el periodo en que se puede mantener un determinado nivel sanguíneo de un antineoplásico, sin daño para el hospedero, es de 24 horas y el agente mata sólo a las células en fase S, entonces la "respuesta" de un tumor en que el 99.99% de las células entra a la fase S en 24 horas, será mucho mejor que la de otro en que sólo el 50% de sus células lo hace; es más, debido a la capacidad de reparación de daños subletales, es posible que ni siquiera se note el efecto del fármaco. Se tienen así bases para intentar una terapéutica racional.

La toxicidad hacia el huésped es el principal limitante en la quimioterapia del cáncer, por lo cual debemos aprender a seleccionar, según el ciclo celular de cada tumor, los fármacos, dosis e intervalos entre dosis.

Por último, es adecuado dejar sentado que en el caso del ciclo celular no han sido los clínicos quienes han obstaculizado su inclusión en la práctica, baste transcribir un fragmento de Baserga (1971):

"Se ha vuelto costumbre el reñir a los clínicos por su tardanza en introducir a la medicina práctica los avances logrados por la investigación médica básica. No ha sido este el caso del ciclo celular: muchos internistas, radioterapeutas, pediatras y cirujanos han intentado de buena fe aplicar nuestros conocimientos del ciclo celular a la terapia del cáncer. Esta vez han sido los investigadores de ciencias básicas quienes han tardado en comprender la importancia del ciclo celular en relación con la bioquímica y la terapéutica de los tumores. Esto ha sido especialmente marcado en los farmacólogos y los departamentos de investigación de las compañías farmacéuticas que, sin embargo, gastan grandes cantidades de dine-

ro en el desarrollo de un enfoque quimioterapéutico racional. Esta ignorancia monolítica, por parte de nuestra industria farmacéutica, de un auxiliar tan importante para la efectividad de la quimioterapia antineoplásica, es un triste comentario sobre su grado de participación en el trabajo de fondo para un tratamiento apropiado del cáncer".

RESUMEN

La comprensión de las diversas etapas del ciclo celular permite suponer que la respuesta de las células tumorales a los fármacos antineoplásicos variará según su posición en el ciclo. El desarrollo, en cultivo de tejidos, de modelos celulares ha proporcionado el medio para demostrar dicha suposición y ha puesto en evidencia que la variabilidad de la respuesta celular depende del mecanismo de acción del fármaco y de los procesos bioquímicos que caracterizan a cada etapa. Con base en estos conocimientos se prueba actualmente el efecto de muchos quimioterápicos.

Los resultados obtenidos permiten establecer bases racionales para esquemas de tratamiento antineoplásico que hasta hace poco podrían haber parecido absurdos.

SUMMARY

The understanding of the diverse stages of the cellular cycle permits us to suppose that the response of the tumoral cells to antineoplastic chemotherapy will vary in accordance to its position in the cycle. In tissue cultures the development of cellular models has afforded the media to demonstrate such suppositions and has put in evidence that the variability of the cellular response depends on the mechanism of action of the chemotherapeutic agent and of the biochemical processes which characterize each stage. In bases of these knowledges the effects of many chemotherapeutic substances are being tested actually.

The obtained results permit the stablishment of rational bases for antineoplastic treatment schedules that until recently might have appeared awkward.

Tabla 1. Duración de las etapas del ciclo celular en tejidos de ratón adulto.

Tejido	Duración (horas) de la etapa				Duración total (horas)
	G ₁	S	G ₂	M	
Folículo piloso en crecimiento	3	7	1	0.5	12
Cripta de intestino delgado	5	6	0.9	0.8	13
Cripta del colon	9	8	1	1	19
Alveolo mamario	45	21	3	1	71

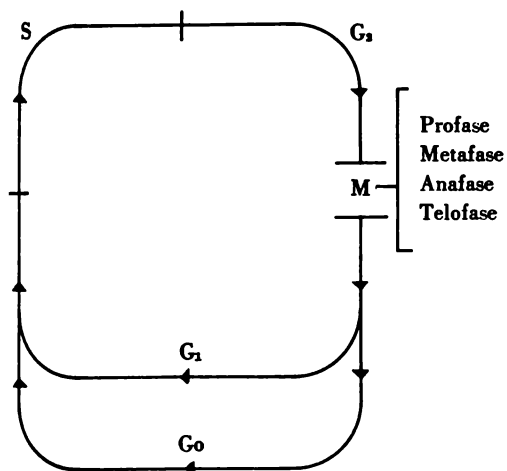


FIG. 1. El ciclo de las células de los mamíferos. Explicación en el texto.

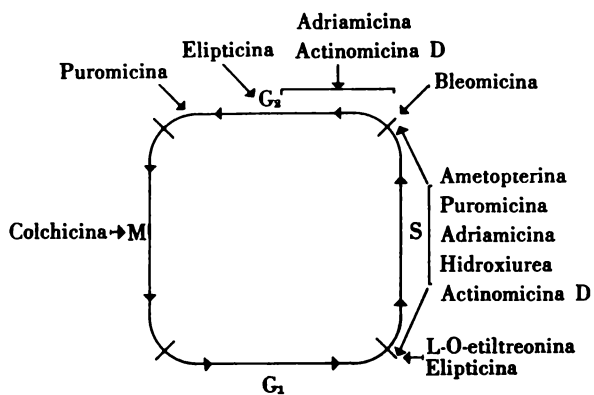


FIG. 2. Bloqueo del ciclo celular por algunos fármacos.

BIBLIOGRAFIA

1. BARRANCO, S. C., y NOVAK, J. K., *Cancer Research* 34: 1616-1618 (1974).
2. BARRANCO, S. C., NOVAK, J. K., y HUMPREY, R. M.; *Cancer Research* 33: 691-694 (1973).
3. BASERGA, R. en: *The Cell Cycle and Cancer*, Baserga, R. (Ed.), Dekker, Nueva York, (1971).
4. DREWINKO, B., NOVAK, J. K., y BARRANCO, S. C.; *Cancer Research* 32: 1206-1208 (1972).
5. FRINDEL, E., y TUBIANA, M., "Radiology and the Cell Cycle". (1971), op. cit (3), pp. 391-447.
6. HAHN, G. M., y LITTLE, J. B., *Current Topics in Radiation Research*, 8: 39-83 (1972), op. cit (9), p. 89.
7. HAHN, G. M., RAY, G. R., GORDON, L. F., y KALLMAN, R. F., *J. Nat. Cancer Inst.* 50: 524-533 (1973).
8. HOWARD, A., y PELC, S. R., *Heredity Suppl.* 6, 261 (1963), citado por Baserga, R., en *The Cell Cycle and Cancer*, Baserga, R. (Edit.), Dekker, Nueva York, 1971, p. 1.
9. HUMPREY, M., y BARRANCO, S. C.; *Cellular Pharmacology*, en *Pharmacological Basis of Cancer Chemotherapy*, publicado por The University of Texas System Cancer Center M. D. Anderson Hospital and Tumor Institute; Williams y Wilkins, Baltimore, 1975, 85-103.
10. MAURO, F., y ELKIND, M. M., *Cancer Research* 28: 1156-1161 (1968).
11. PUCK, T. F., y MARCUS, P. I., *Journal of Experimental Medicine*, 103: 653-666 (1956), op. cit en (9), p. 88.
12. TERASIMA, T., y COLS., *J. Nat. Cancer Inst.* 49: 1093-1100 (1972).
13. SINCLAIR, W. K., *Science*, 150: 1729-1731 (1965).
14. SKIPPER, H. E., *The Cell Cycle and Chemotherapy of Cancer*, op. cit Baserga, R. *The Cell Cycle and Cancer*, Ed., Dekker, Nueva York (1971), pp. 358-387.
15. TERASIMA, T., y TOLMACH, L. J., *Nature*, 190: 1210-1211 (1961).
16. WALKER, I. G., y HELLEINER, C. W., *Cancer Research*, 23: 734-738 (1963).
17. YÁÑEZ, A. R., y ORDORICA V., J. G., *Acta Médica XIV*, 56: 5-8 (1978).