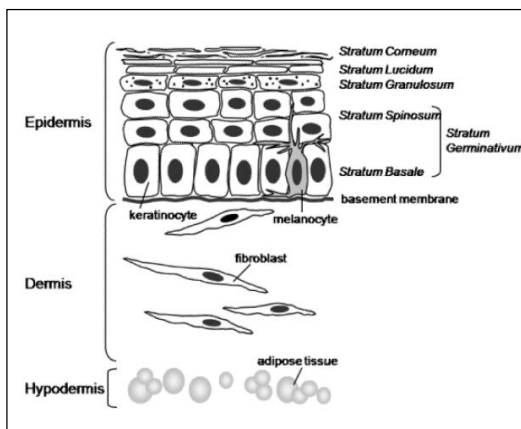


## CARCINOGENÉISIS DE PIEL: UN RELATO DE RATONES Y HOMBRES

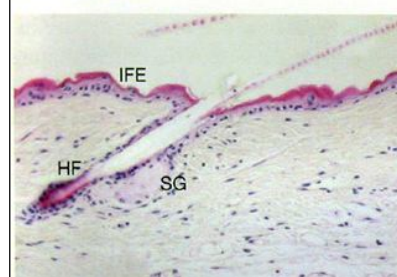


**Miguel Quintanilla**  
**Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols**  
**CSIC-UAM**  
**Madrid**

**La piel está constituida por dos compartimentos y varios tipos celulares**



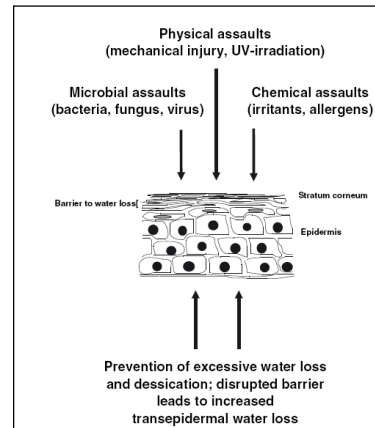
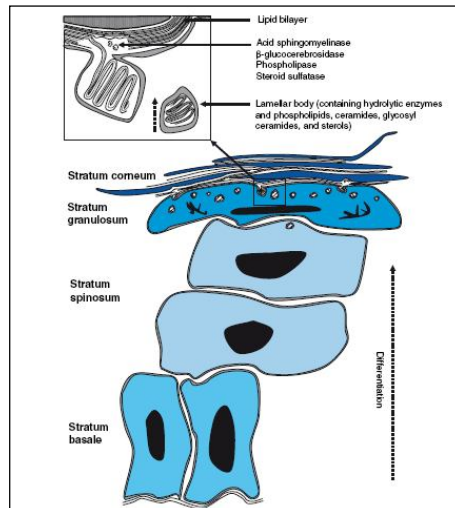
**a Normal skin**



**Lo más profundo que hay en el hombre es la piel**  
**-Paul Valéry-**

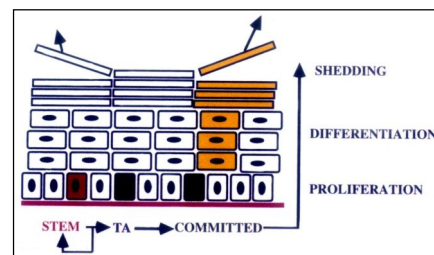
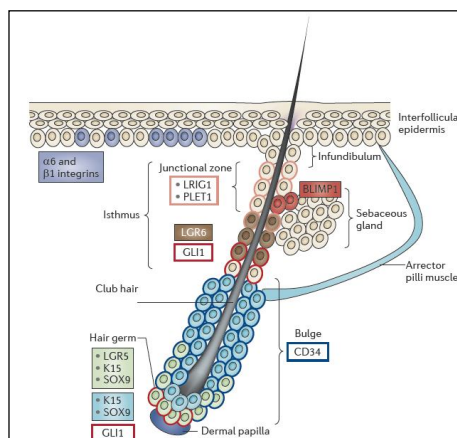
*Brohem et al., Pigment Cell melanoma Res., 2011*

## La epidermis es una barrera indispensable entre el organismo y el ambiente



Proksch et al. *Exper. Dermatol.*, 2008

## Homeostasis epidérmica y células madre



- Las células madre son las únicas células que permanecen en la piel durante largos periodos de tiempo

Jones, *BioEssays* 1997

Arwert et al., *Nat. Rev. Cancer* 2012

## El principal agente etiológico del cáncer de piel es la radiación UV

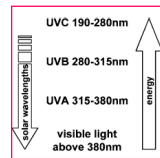
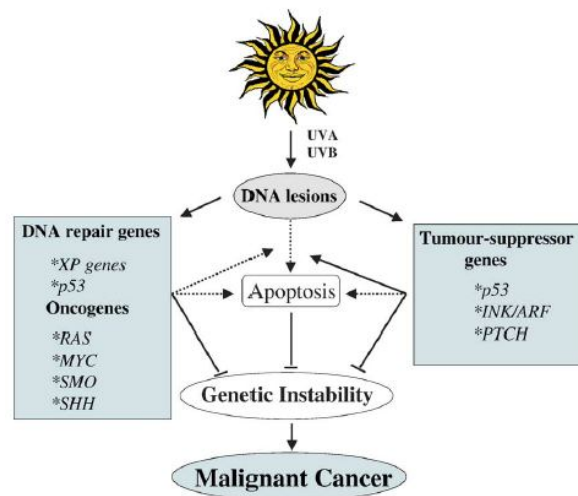


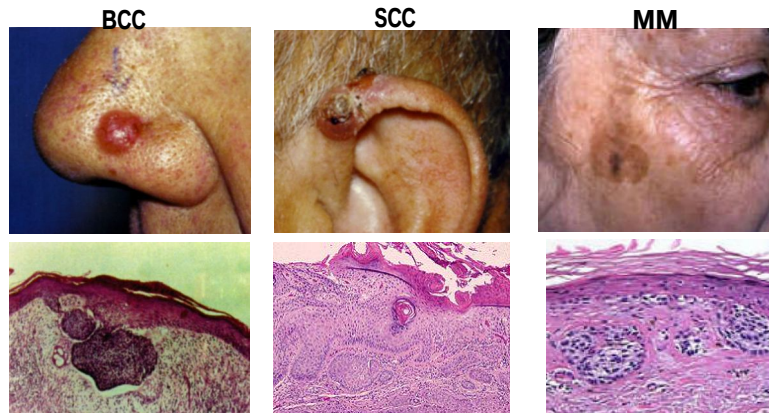
Table 1 Types of ultraviolet radiation and their properties<sup>16-20</sup>

| Type of UV radiation          | General properties                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ultraviolet A radiation (UVA) | <p>Approximately 90-99% reaches the earth's surface</p> <p>Is not filtered by the stratospheric ozone layer in the atmosphere</p> <p>Long wavelength &amp; low energy- can penetrate deeper into the skin</p> <p>Once considered harmless, but now believed to be harmful if one has excessive and long-term exposure</p> <p>Causes aging of the skin; induces immediate and persistent pigmentation (tanning)</p> <p>Passes through glass</p> |
| Ultraviolet B radiation (UVB) | <p>Approximately 1-10% reaches the earth's surface</p> <p>Filtered by the stratospheric ozone layer in the atmosphere</p> <p>Short wavelength &amp; high energy- can penetrate the upper layers of the epidermis</p> <p>Responsible for causing sunburns, tanning, wrinkling, photoaging and skin cancer</p> <p><u>Carcinogenic and a thousand times more effective in causing sunburns than UVA</u></p> <p>Does not pass through glass</p>    |
| Ultraviolet C radiation (UVC) | <p>Filtered by the stratospheric ozone layer in the atmosphere before reaching earth</p> <p>Major artificial sources are germicidal lamps</p> <p>Burns the skin and causes skin cancer</p>                                                                                                                                                                                                                                                     |

## El principal agente etiológico del cáncer de piel es la radiación UV



### **Tres tipos principales de cáncer cutáneo**



- No melanoma: 2-3 millones casos/año en el mundo
    - Carcinoma basocelular (BCC): exposición intermitente e intensa a UV
    - Carcinoma escamoso (SCC): exposición crónica a UV
  - Melanoma maligno (MM): 132.000 casos/año en el mundo: exposición intermitente e intensa a UV
- \* El melanoma representa sólo el 3% de todos los cánceres de piel en USA pero es responsable del 75% de las muertes por cáncer cutáneo

### **Factores de riesgo para el cáncer de piel**



Joven albino africano

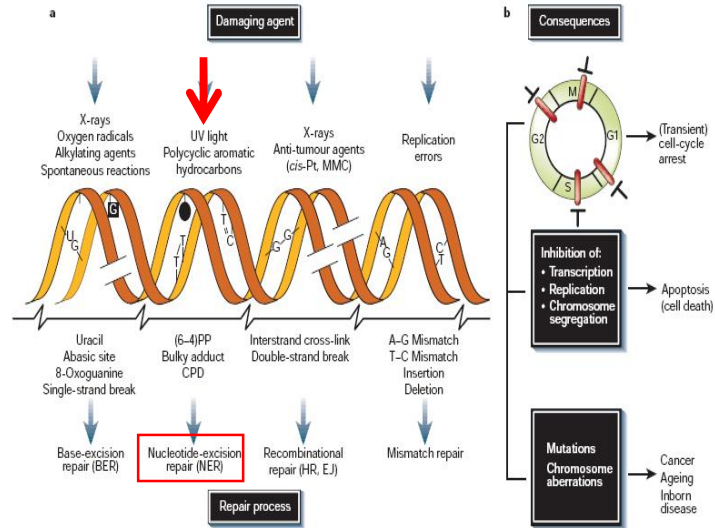
#### Factores de riesgo:

- Radiación UVA, UVB
- Inmunosupresión (transplantes de órganos)
- AIDS
- HPV
- Carcinógenos químicos
- Radiación ionizante (RX)

#### Síndromes genéticos hereditarios:

- Xeroderma pigmentosum (SCC, BCC, MM)
- Albinismo oculocutáneo (BCC, MM, SCC)
- Síndrome de Gorlin (BCC)
- Melanoma familiar (MM)

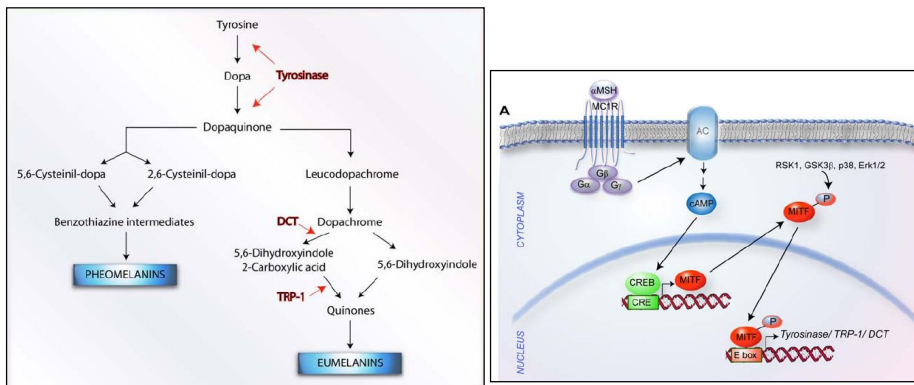
## ***Daño al DNA y mecanismos de reparación***



XP: mutaciones en genes NER XP A-G, confiere hipersensibilidad a la radiación solar y predispone al cáncer cutáneo: SCC, BCC, melanoma

*Hoeijmakers Nature 2001*

## Genética de la pigmentación



MC1R: Melanocortin receptor 1;  $\alpha$ MSH:  $\alpha$  melanocyte stimulating hormone; MITF: microphthalmia associated transcription factor

- Feomelanina: pigmento rojo-amarillo (potencialmente peligroso) / Eumelanina: pigmento rojo-marrón (fotoreactivo, protector)
- MC1R es altamente polimórfico en la población humana, algunas variantes relacionadas con el fenotipo RHC (red hair colour) sintetizan grandes cantidades de feomelanina y tienen una reducida capacidad para protegerse de la UVR

*Lomas et al., Front. Biosci., 2008*

## Genética de la pigmentación

**Table 1** Types of OCA and the affected genes, gene products and phenotype

| Types of OCA           | Gene    | Affected protein                | Phenotype                                   |
|------------------------|---------|---------------------------------|---------------------------------------------|
| OCA1A<br>(OMIM 203100) | TYR     | Tyrosinase<br>absent/inactive   | White hair, pinkish<br>skin, red pupils     |
| OCA1B<br>(OMIM 606952) | TYR     | Tyrosinase<br>partially active  | Yellow pigment<br>in hair, eyes<br>and skin |
| OCA2<br>(OMIM 203200)  | OCA2    | P-protein                       | Similar to OCA1B                            |
| OCA3<br>(OMIM 203290)  | TYRP1   | Tyrosinase-related<br>protein-1 | Red hair,<br>reddish-brown<br>skin          |
| OCA4<br>(OMIM 606574)  | SCL45A2 | MATP                            | Similar to OCA1B<br>and 2                   |

Lomas et al., *Front. Biosc.*, 2008

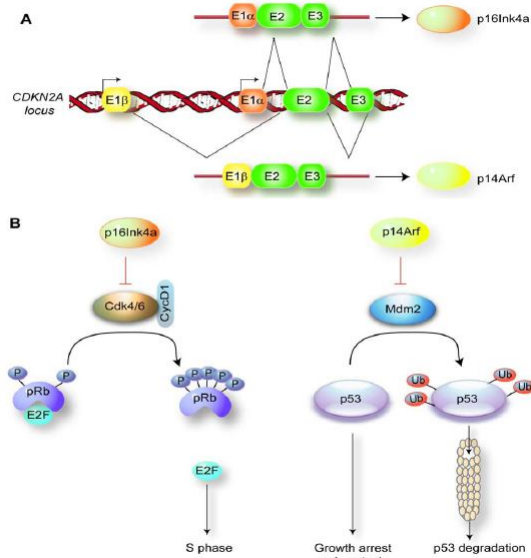
## Biología molecular del cáncer cutáneo

| Célula        | Tumor                           | Mutaciones en<br>síndromes<br>hereditarios            | Mutaciones<br>en cáncer<br>esporádico <sup>§</sup>           |
|---------------|---------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Melanocito    | Melanoma<br>maligno             | Melanoma familiar<br><br><i>CDKN2A</i><br><i>CDK4</i> | <i>BRAF</i><br><i>NRAS</i><br><i>PTEN</i><br><i>(CDKN2A)</i> |
| Queratinocito | Carcinoma<br>basocelular<br>BCC | Gorlin (NBCC)<br><br><i>PCTH1</i>                     | <i>PTCH1</i><br><i>SMO</i><br><i>TP53*</i>                   |
|               | Carcinoma<br>escamoso<br>SCC    |                                                       | <i>TP53</i><br><i>CDNK2A</i><br><i>(HRAS, KRAS)</i>          |

<sup>§</sup> La frecuencia de mutaciones aumenta en pacientes con Xeroderma pigmentosum (XP)

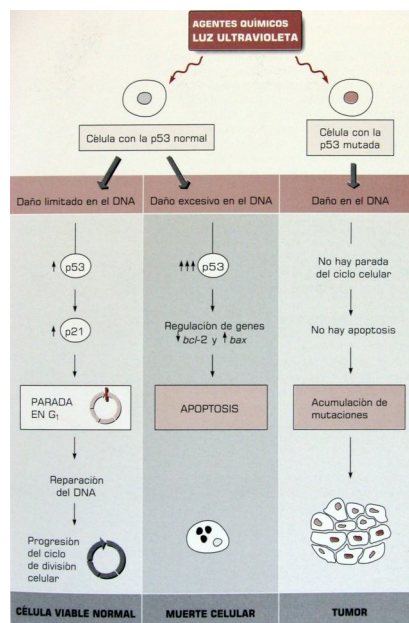
\* Correlación clínica poco clara

### El locus CDKN2A



Lomas et al., Front. Biosci, 2008

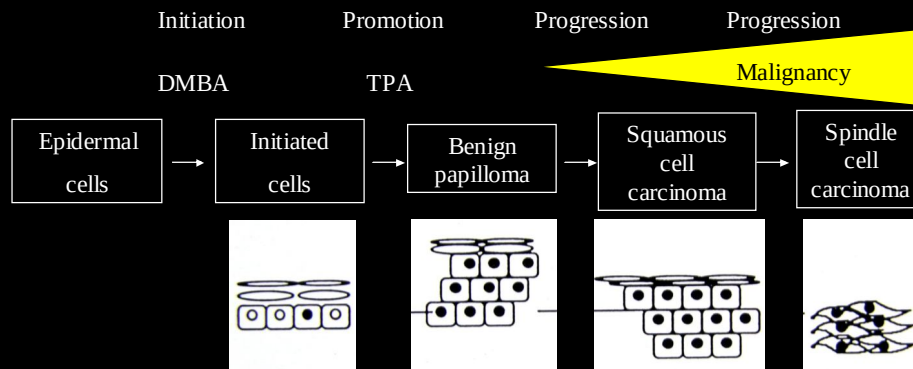
### P53, el guardián del genoma



Muñoz A, Cáncer, Ed. Hélice 1997



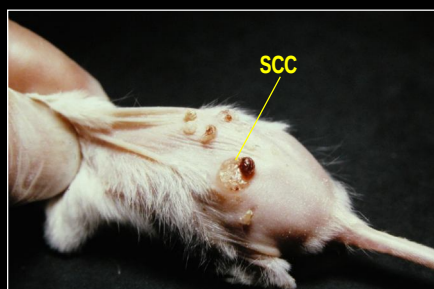
### *The mouse skin chemical carcinogenesis model*



### *The mouse skin chemical carcinogenesis model*



**Papillomas**



**Regressing papillomas**



## CARCINOGENESIS AMBIENTAL

~80% de las muertes por cáncer en los países desarrollados se atribuyen a factores tales como el tabaco (30%), dieta (35%), alcohol, infecciones y exposiciones ocupacionales



**Paracelso**

El primero en considerar un compuesto químico como carcinógeno: realgar (sulfuro de arsénico) en la "enfermedad consuntiva" de los mineros (1567)



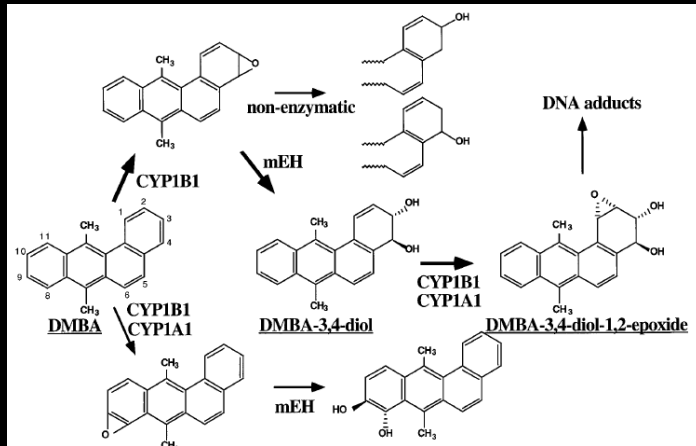
**Sir Ernest L. Kannaway y cols.**

El primero en demostrar que los hidrocarburos policíclicos aromáticos (dibenzantraceno) producen tumores en la piel de ratones (1930)

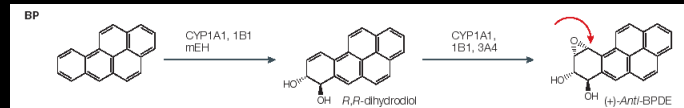
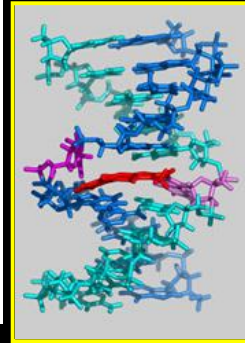
Table 1 | **Selected human chemical carcinogens**

| Compounds*                                   | Main sources/uses                                   | Affected organs/cancer type                                     |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>Aminoazo dyes</b>                         |                                                     |                                                                 |
| <i>o</i> -Aminoazotoluene                    | Pigments; colouring oils; immunosuppressant         | Liver, lung, bladder                                            |
| <i>N,N</i> -dimethyl-4-aminoazobenzene       | Colour polishes; waxes (no longer in use)           | Lung, liver                                                     |
| <b>Anticancer drugs</b>                      |                                                     |                                                                 |
| Melphalan                                    | Chemotherapy                                        | Leukaemia <sup>†</sup>                                          |
| Thiotepa                                     | Chemotherapy (no longer in use)                     | Leukaemia <sup>†</sup>                                          |
| <b>Aromatic amines/amides</b>                |                                                     |                                                                 |
| 2-Naphthylamine                              | Dyes; antioxidant (no longer in use)                | Bladder <sup>†</sup>                                            |
| 4-Aminobiphenyl                              | Dyes; antioxidant (no longer in use); research tool | Bladder <sup>†</sup>                                            |
| 2-Acetylaminofluorene                        | Model compound; tested as a pesticide               | Liver, bladder                                                  |
| <b>Aromatic hydrocarbons</b>                 |                                                     |                                                                 |
| Benzo[ <i>a</i> ]pyrene                      | Coal tar; roofing; cigarette smoke                  | Skin, lung, stomach                                             |
| 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin | No commercial use; tested as a pesticide            | Lung <sup>†</sup> , lymphoma <sup>†</sup> , liver               |
| Polychlorinated biphenyls                    | Flame retardants; hydraulic fluids                  | Liver, skin <sup>†§</sup>                                       |
| <b>Metals (and compounds)</b>                |                                                     |                                                                 |
| Arsenic                                      | Natural ores; alloys; pharmaceutical agent          | Skin <sup>†</sup> , lung <sup>†</sup> , liver <sup>†</sup>      |
| Cadmium                                      | Natural ores; pigments; batteries; ceramics         | Lung <sup>†</sup> , prostate <sup>†</sup> , kidney <sup>†</sup> |
| Nickel                                       | Natural ores; alloys; electrodes; catalysts         | Lung <sup>†</sup> , nasal cavity <sup>†</sup>                   |

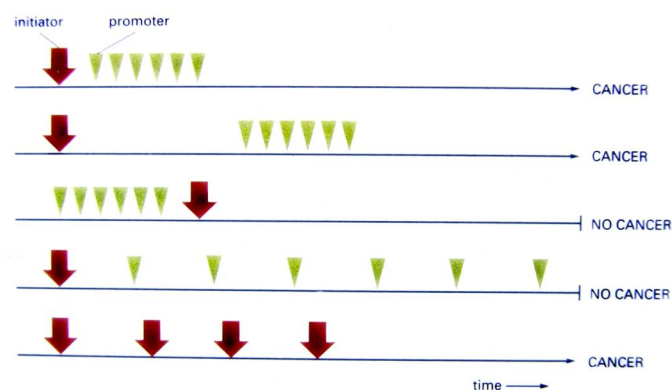
**DMBA y BP se metabolizan en el interior de la célula para originar compuestos muy reactivos**



mEH, microsomal epoxide hydrolase; CYP1, cytochrome P450s



## Experimentos clásicos



## ***Conceptos derivados de las observaciones clásicas en el modelo de la carcinogénesis de piel de ratón***

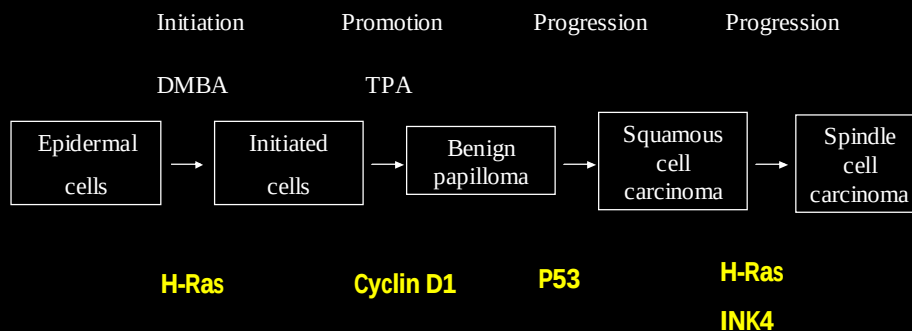
-El cáncer es un proceso de naturaleza multisequencial

-La iniciación es un evento genético irreversible que podría producirse en una célula madre o progenitora

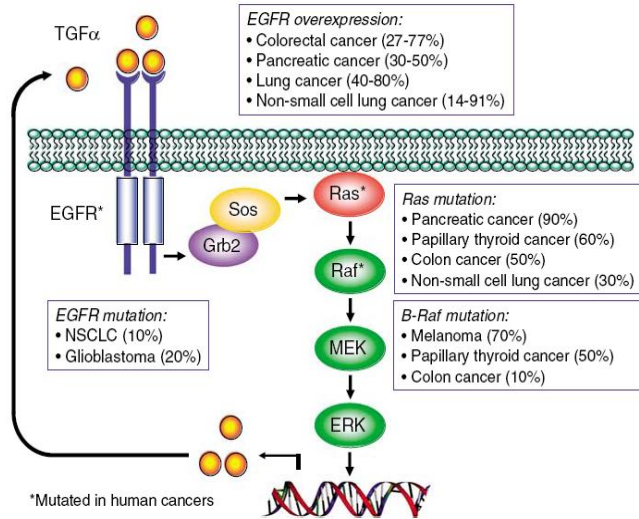
-La promoción representa una expansión clonal de las células “iniciadas” para formar tumores benignos

-La progresión a carcinomas malignos es una etapa adicional en la evolución del tumor

### ***The mouse skin chemical carcinogenesis model***



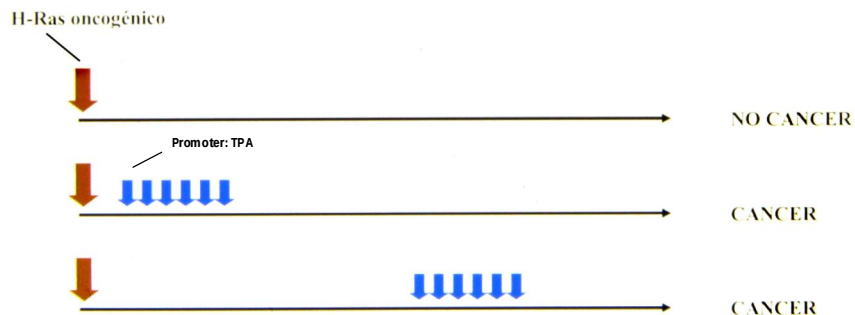
## La vía de señalización Ras/MAPK y su importancia en el cáncer humano



• La vía de MAPK regula la producción de factores mitogénicos (TGF $\alpha$ ) que actúan estimulando el crecimiento tumoral de forma autocrina

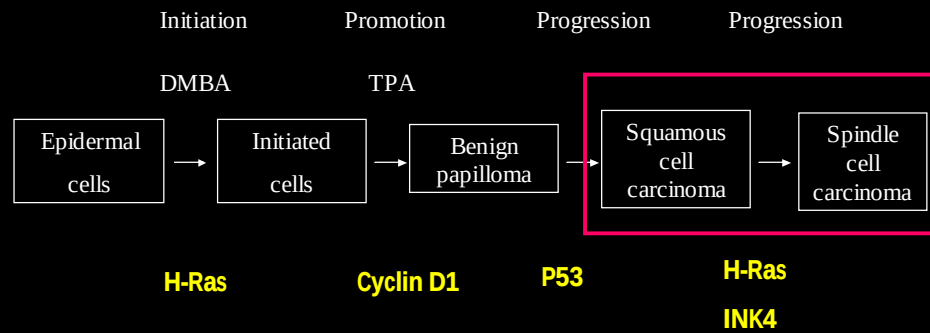
## Demostraciones experimentales de la función de H-Ras oncogénico y p53 en la carcinogénesis

- Retrovirus H-Ras (HaMSV, BALB MSV)
- Ratón transgénico que expresa H-Ras oncogénico en la epidermis

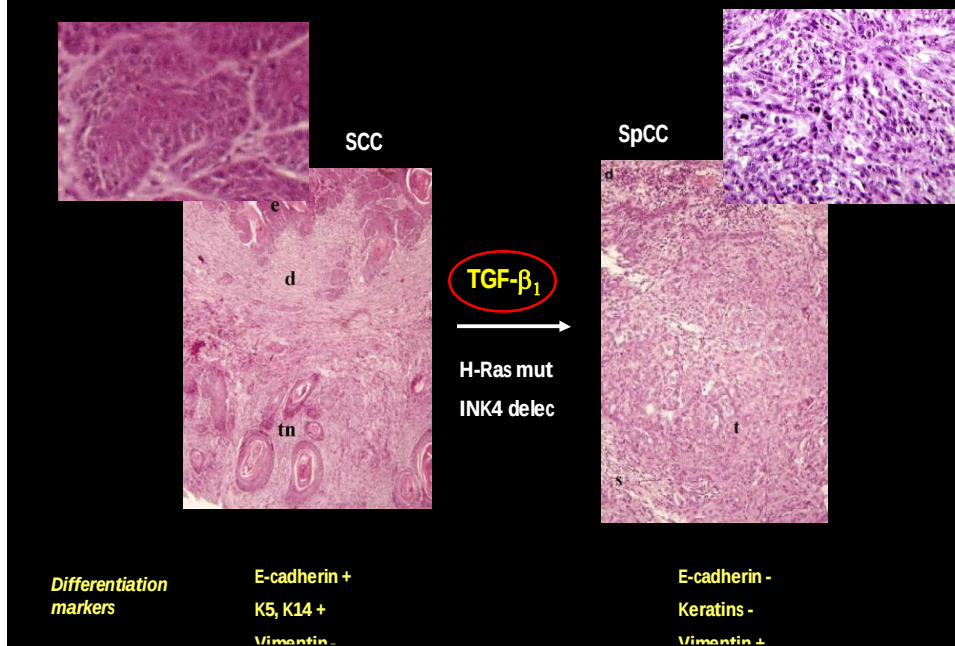


- Ratones K.O. p53 sometidos a carcinogénesis con DMBA/TPA tienen acelerada la progresión a carcinomas

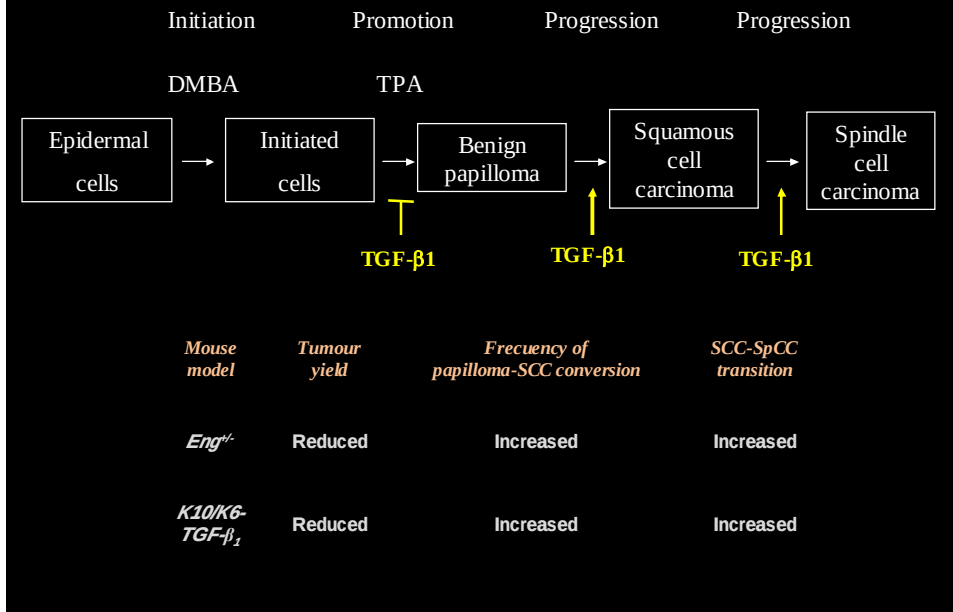
## *The mouse skin chemical carcinogenesis model*



## *The squamous-spindle cell carcinoma transition*

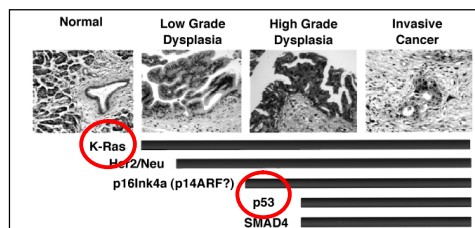


## The dual role of TGF-beta in mouse skin carcinogenesis

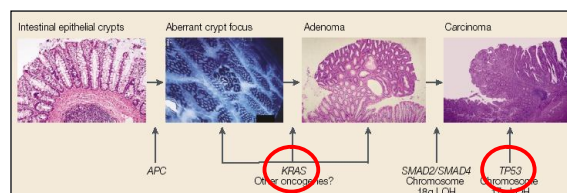


**El cáncer humano es también un proceso de naturaleza multiseccuencial asociado a la activación de protooncogenes e inactivación de genes supresores**

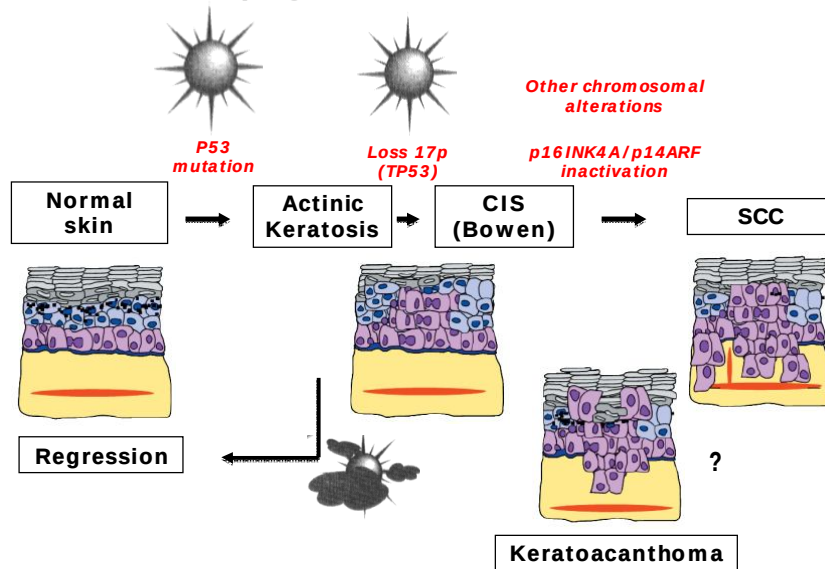
**Cáncer pancreático**



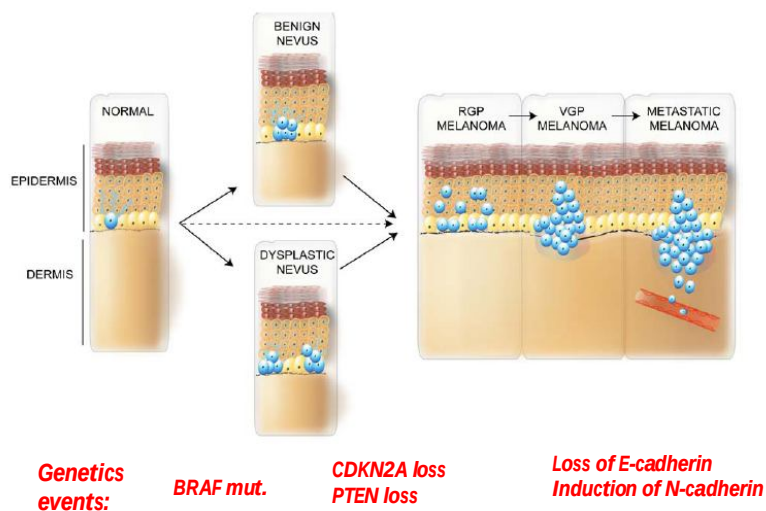
**Cáncer colorrectal**



### Eventos en la progresión a SCC cutáneo en humanos



### Eventos en la progresión a melanoma cutáneo en humanos



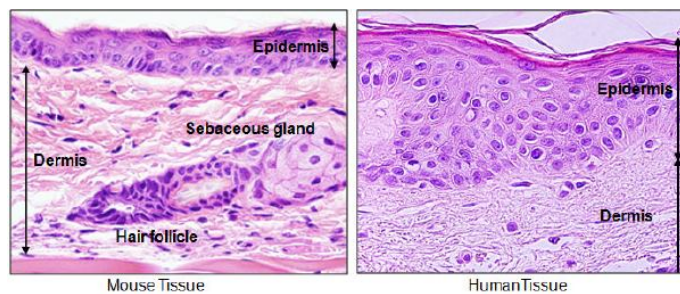


## Ejemplos de modelos para melanoma y BCC con ratones modificados genéticamente

| Modelo ratón                                        | Exposición a carcinógeno               | Fenotipo tumoral           |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|
| <i>Tyr-SV40T-Ag<sup>+</sup></i>                     | -                                      | Melanoma (baja frecuencia) |
|                                                     | UV (exposición corta a recién nacidos) | Melanoma metastásico       |
| <i>p16Ink4a<sup>-/-</sup></i>                       | DMBA                                   | Melanoma (baja frecuencia) |
| <i>p16Ink4a<sup>-/-</sup>; p19Arf<sup>-/-</sup></i> | DMBA                                   | Melanoma metastásico       |
| <i>K14-SHH</i>                                      | -                                      | BCC                        |
| <i>K5-SMO-M2</i>                                    | -                                      | BCC                        |
| <i>Pcthl<sup>+/+</sup></i>                          | -                                      | Meduloblastoma (no BCC)    |
|                                                     | UV/RX                                  | Meduloblastoma + BCC       |

Lomas et al., *Front. Biosci.*, 2008  
di Magliano y Hebok, 2003

## Diferencias entre la piel humana y la piel del ratón

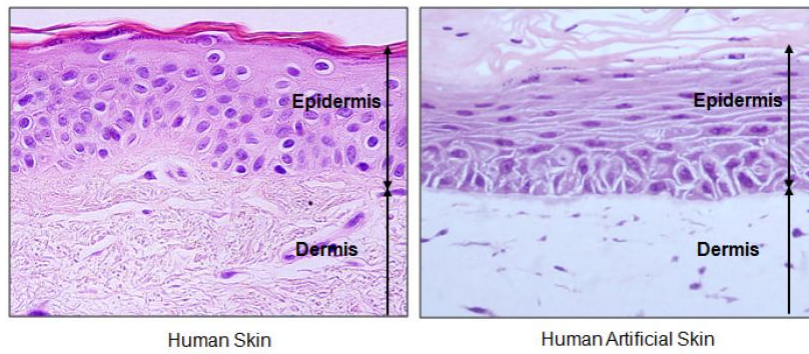
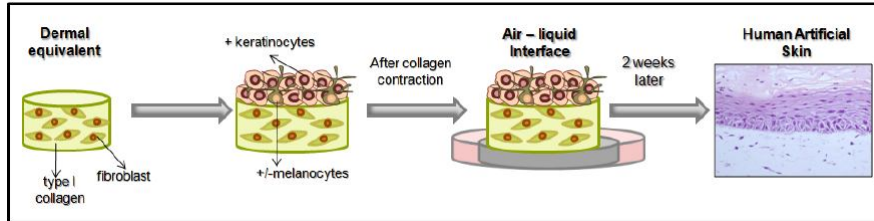


- HFs abundantes, sincronizados en los 3 primeros meses
- Dermis y epidermis (3 capas) delgadas
- Melanocitos localizados en los HFs (dermis)
- Contiene una capa muscular (panniculus carnosus)

- Extensas regiones IFE con HFs escasos y asíncronos
- Dermis y epidermis (6-10 capas) gruesas
- Melanocitos localizados en la capa basal de la epidermis
- No contiene una capa muscular (panniculus carnosus)

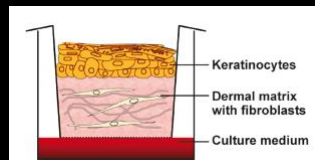
Brohem et al., *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2011

## Cultivos organotípicos de piel humana



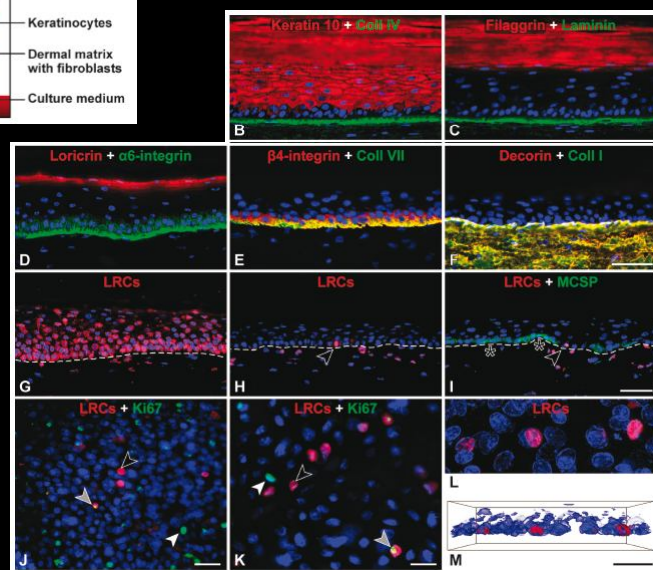
Brohem et al., *Pigment Cell Melanoma Res.*, 2011

## Cultivos organotípicos de piel humana

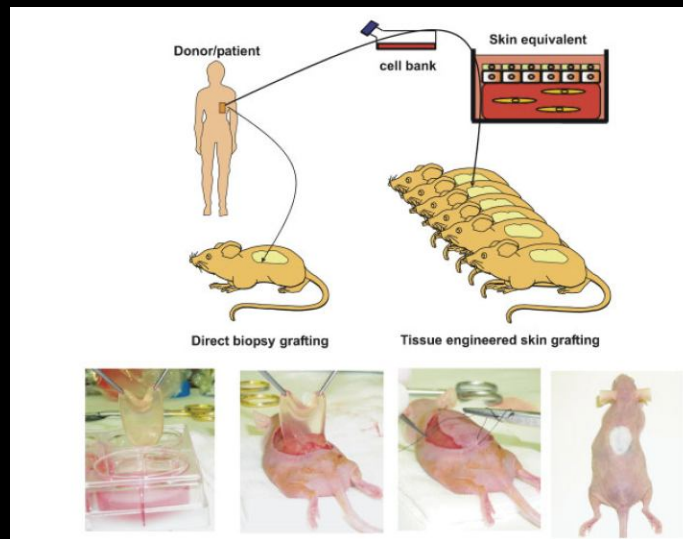


Boehnke et al., *Carcinogenesis*, 2012

G: IdU x 2 wks  
H: IdU x 2 wks + 8 wks chase



## Ratones con piel humanizada



- Modelos de enfermedades genéticas
- Modelo para estudios de cicatrización de heridas
- Modelo para respuesta a radiación UV

García et al., *Mol. Carcinog.*, 2007