

Nuevas dianas terapéuticas en carcinomas basocelulares

New therapeutic targets in basal cell carcinoma

Hasta los años 80, los tratamientos utilizados en carcinomas basocelulares (CB) y espinocelulares (CE) eran comunes. La cirugía se mostraba como mejor opción, seguida muy a distancia de otros tratamientos, como la criocirugía y electrocirugía, de efectos más paliativos que curativos. En 1994, Greenway y cols.[1] sorprendieron a la comunidad científica con un estudio en el que mediante tratamiento médico consiguieron regresiones completas en CB. Para ello utilizaban una citoquina, el IFN-alfa-2b, en infiltración intra y peritumoral. Su mecanismo de acción se basaba en la estimulación de TNF-alfa, induciendo apoptosis tumoral por FAS/FAS ligand. Aunque Greenway aportó curaciones del 100% de casos tratados, estudios posteriores comprobaron que las regresiones tumorales completas oscilaban del 70 al 80%. Además, producía múltiples efectos secundarios como escalofríos, fiebre, malestar general e hipertensión, que limitaban su uso.

En 1998 Beutner y cols.[2] publicaron otra aportación histórica. Una crema que contenía un derivado de los imidazólicos, el imiquimod, conseguía tópicamente mejores resultados que los obtenidos mediante IFN-alfa-2b intralesional, induciendo regresiones completas del 80-90% de CB. Su mecanismo de acción también era mediante inducción de apoptosis, no sólo mediante actuación sobre la inmunidad celular y producción de TNF-alfa, sino también de la inmunidad innata, con una actuación directa y específica sobre los receptores toll-like 7.

La vía Hedgehog

La sospecha del papel fundamental de las alteraciones genéticas en el desarrollo de carcinomas la tenemos desde hace décadas, como ocurre en el síndrome de Gorlin o síndrome del nevus basocelular (SNBC), entidad descrita a mediados del siglo XX. Hoy conocemos que las anomalías moleculares pivotaes en CB que conducen a la carcinogénesis se basan en mutaciones del gen p53 y una inapropiada activación de la vía Hedgehog (HH). Esta vía fue descrita por primera vez en estudios genéticos de segmentación en la mosca *Drosophila melanogaster*. Su nombre proviene del aspecto que adquieren las moscas mutantes que padecen esta malfunción de proteínas HH, dándole un aspecto similar a un erizo.

En los mamíferos existen tres homólogos HH: Sonic (SHH), Indian (IHH) y Desert (Dsh), siendo de todas ellas la más conocida la Sonic Hedgehog, y la mejor descrita en los estudios realizados hasta la fecha. Esta vía es crucial para el desarrollo y mantenimiento del sistema nervioso central, esqueleto axial, pulmones, piel, pelo y población de células madre. SHH se sintetiza como una proteína precursora de 45 kDa, que es secretada y ligada al receptor Patched-1 (PTCH-1). La proteína PTCH-1 es un receptor transmembrana-12 para SHH, y es la llave para inhibir la señal de SHH.

La mayoría de los CB tienen sobreactivada la vía de la señal SHH, debido a la inactivación de PTCH-1 por mutación. PTCH-1 actúa como gen supresor tumoral[3]. El gen PTCH está localizado en el cromosoma 9q (9q22.3) y su delección está demostrada en más del 30% de los CB. PTCH es una parte crucial de SHH que determina el desarrollo de múltiples estructuras del embrión. En los CB, PTCH está mutada de forma esporádica o hereditaria, y su inactivación es necesaria para el desarrollo tumoral. Existen dos tipos de PTCH: PTCH-1, sumamente importante en el desarrollo embrionario y su pérdida está muy ligada a tumorigénesis, y PTCH-2, de función concomitante a PTCH-1. Además, PTCH-1 inhibe la señal SHH mediante la inhibición del receptor transmembrana-7, denominado smoothened (SMO). Y a su vez, la represión de SMO por Pthc-1 inactiva a la familia de factores de transcripción asociados a gliomas (Gli-1, Gli-2, Gli-3). Por tanto, Gli-1, PTCH-1 y SMO están íntimamente relacionados, con un feed-back positivo y negativo en su regulación.

Por último, la vía HH va tener como dianas directas a Bcl-2, ciclina D1, ciclina D-2, FoxM1, FoxE1, Hip, PDGFR-a y MIM entre otros[4, 5]. Como muchos de estos genes están directamente implicados en la regulación del ciclo celular (ciclinas) y de supervivencia celular (Bcl-2), la activación de estos genes es uno de los mecanismos para el desarrollo y proliferación de los CB.

En el 70% de los CB esporádicos y en la gran mayoría de los que parecen en el síndrome de Gorlin, se han comprobado mutaciones del gen PTCH-1 que causan una activación del SHH, con elevados niveles del factor de transcripción Gli-1[6]. Esta

mutación provee una marcada predisposición al daño producido por la exposición a los rayos ultravioletas solares. Couvé-Privat y cols.[7] observaron que existían mutaciones SMO por UV en el 30% de los CB en paciente afectados de xeroderma pigmentoso, siendo 3 veces más alto que en la población blanca normal. Esta mutación del PTCH-1 no se ha comprobado en los CE, pero sí en los fibrosarcomas, meduloblastomas y rhabdomyosarcomas.

Todo lo anterior hizo que, desde el año 2000, comenzara una nueva vía terapéutica, que se basaba en una actuación de la vía Hedgehog o de SMO. El desarrollo de esta línea de actuación sobre CB ha hecho posible no sólo una actuación directa sobre estas proteínas, sino también de quimioprevención a largo plazo.

Inhibidores de HH

La activación aberrante de SHH están implicada en numeroso tipos de cáncer, como CB, melanomas, meduloblastomas, cáncer pulmonar, cáncer gastrointestinal y pancreático[8], de ahí que pronto se fijase la atención en la utilización de antagonistas o inhibidores de la vía HH.

El descubrimiento, en 1996, de que pequeñas moléculas moduladoras de la señal SHH tenían una gran capacidad antitumoral, no sólo en CB, sino también en meduloblastomas, cáncer pancreático y cáncer de próstata, fue un gran hito. Estas llamadas "pequeñas moléculas" antagonistas de HH rápidamente demostraron una gran actividad como potentes medicaciones anticancerosas. Anticuerpos anti-PTCH-1 suprimen la señal y proliferación de CB y cánceres pancreáticos. Pequeñas moléculas inhibidoras de HH utilizadas por vía oral, como la IPI-269609, sirvieron para inhibir las metástasis de cáncer pancreático. Su mecanismo de actuación era por inhibición HH/GLI y supresión de Bcl-2.

Se han descrito hasta la fecha múltiples moléculas pequeñas de actividad en la vía SHH, como GANT58, GANT61, robotnikinin, SANT1, purmorphamine y SAG, entre otras. Quizás los resultados mas esperanzadores para el futuro se han obtenido con CUR61414[9]. Este antagonista sintético de HH y SMO fue capaz de reducir la aparición de CB en ratones cuando se administraba oral o sistémico, tanto ex vivo como in vivo. Cuando se trató de llevar a la práctica de forma tópica, no se observó ningún tipo de respuesta, desconociéndose la causa.

Por desgracia, muchas de las pequeñas moléculas de actividad sobre la vía HH no han sido capaces de demostrar actividad in vivo, pero sí in vitro.

Inhibidores SMO

Una de las dianas más atractivas es SMO. En 1998 se descubrió que la ciclopamina, un alcaloide esteroide de origen vegetal obtenido de la *Veratrum californicum*, se liga directamente a las hélices transmembranas de SMO e inhibe la señal HH[10]. Este descubrimiento abrió una gran expectativa y fue el origen de una nueva avalancha de tratamientos con esta diana terapéutica. Desde entonces, se han realizado numerosos estudios con ciclopamina y análogos en diversos tipos de cáncer. En particular, las células anaplásicas de los CB muestran un dramático efecto cuando se exponen a la ciclopamina. Se comprobó que la ciclopamina inhibe la producción de líneas celulares murinas de CB, así como que su administración oral puede bloquear la aparición de CB inducidos por UV, mediante el incremento de la apoptosis mediante la familia TNF Fas[11]. Por el contrario, este efecto pro-apoptótico no fue observado en los CE.

También se han utilizado análogos de la ciclopamina, como el IPI-926, una ciclopamina semisintética que mejora notablemente sus propiedades farmacocinéticas y su potencia. Su administración oral a 40 mg/kg mostró un gran efecto antitumoral en CB y meduloblastomas[12].

Recientemente, Von Hoff y cols.[13] han utilizado una pequeña molécula denominada GDC-0449 o Vismodegib, con un mecanismo de actuación se basa en la supresión de la señal HH por interferencia de SMO. De 33 pacientes afectados de CB avanzados o metastásicos, en tratamiento por vía oral durante una media de 9,8 meses, se obtuvo respuesta en 18 casos (58%), siendo de ellos completas en 2 casos, y parciales en 16 de ellos. El medicamento fue bien tolerado, observándose como efectos secundarios hiponatremia, espasmos musculares y fibrilación auricular. Estos efectos han sido posteriormente confirmados en estudios posteriores,¹⁴ y en todos los estudios los efectos secundarios fueron más tolerables que los secundarios a quimioterapia. Vismodegib está siendo sometido a ensayos clínicos fase II, no sólo en tratamientos de CB avanzados, sino también de cáncer colorrectal metastásico, cáncer de ovario, meduloblastomas y otros tumores sólidos.

Estatinas

El colesterol es muy importante para la señal transductora de HH, de forma que moléculas hidrofóbicas como el colesterol pueden ligarse a SMO, pudiendo activarlo o desactivarlo. En el 2002, se relacionó PTCH-1 con el transporte hidrofóbico de pequeñas moléculas, como el colesterol[15]. De hecho, el colesterol presenta una formulación química muy similar a la ciclopamina. Cuando se realizaba una disminución del colesterol sérico con dextrinas o estatinas, ocurría una disminución de la transducción de SHH[16]. Se han esgrimido varios mecanismos de acción para este hecho: acción directa, inducción de cambios de SMO o inducción de cambios de propiedades de membrana. PTCH-1 pueden regular los niveles celulares de esteroides disponibles para activación de SMO[15]. La simple reducción de grasas en la dieta, que decrece la señal SHH, se ha relacionado con una menor aparición de CB. Las estatinas, en particular la simvastatina, que inhiben la HMG-CoA reductasa, han demostrado reducción de aparición de CB y melanomas[17].

Vitamina D

La pro-vitamina D3, un derivado del colesterol (7-dehidrocolesterol) puede alterarse por mutaciones en el gen PTCH-1. En este caso, la vitamina D3 actúa como antagonista SMO, incluso mostrando competencia para ligarse a SMO con la ciclopamina. Por tanto, la vitamina D3 se une a SMO e inhibe la vía SHH, al menos en experimentos *in vitro*, pero falta la comprobación *in vivo*. Si la vitamina D3 realmente inhibe los genes SMO y SHH, el suplemento oral de vitamina D podría inhibir tanto los CB cutáneos como otros tumores relacionados con la vía HH. Brüggemann y cols.[18] observaron que la vitamina D3 producía una detección del crecimiento tumoral por inactivación de SMO, más que por la actuación sobre los receptores epidérmicos de vitamina D3. Pero estos resultados han sido obtenidos sólo en pruebas *in vitro*, y no fueron ratificadas *in vivo* por causas que hasta ahora son desconocidas[18].

Otros tratamientos

El número de publicaciones sobre nuevos tratamientos experimentales con dianas biológicas en la vía HH está creciendo de forma notable desde los últimos 3 años. Entre otros, merece la pena destacar que la actuación sobre EGFR tiene implicaciones sinérgicas sobre HH/Gli por actuación sobre RAS/RAF/MEK/ERK[19]. Igualmente, el ácido betulínico, obtenido del abedul, se conoce desde hace años por actuar como un potente agente inductor de la apoptosis. Su mecanismo íntimo se ha confirmado que se realiza a través de la vía HH, con gran componente añadido citotóxico. La masiva apoptosis que induce podría abrir interesantes implicaciones en el tratamiento de los C.

Futuro

Todo lo anterior no es ciencia-ficción. Se ha abierto una vía muy importante de tratamientos para el CB en la que debemos fijar nuestra atención, ya que con seguridad en pocos años se llevarán a la práctica diaria. De hecho, existen ya ensayos clínicos en fase II para el Vismodegib en pacientes afectados del SNBC, en los que parece tener un efecto altamente beneficioso. Además, se abre la posibilidad de asociaciones con otros tratamientos, como la ciclopamina y el inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico, o con quimioradioterápicos.

Julián Conejo-Mir*, Lola Conejo-Mir**

*Catedrático y Jefe de Servicio-Director de la UGC.

**Residente de Dermatología

Servicio-UGC Dermatología Médico-Quirúrgica y Venereología.

Hospital Universitario Virgen del Rocío.

Sevilla.

E-mail: jsconejomir@gmail.com

Bibliografia

- Greenway HT. Interferon. *West J Med* 1994;160:363.
- Beutner KR, Geisse JK, Helman D, Fox TL, Ginkel A, Owens ML. Therapeutic response of basal cell carcinoma to the immune response modifier imiquimod 5% cream. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41:1002-7.
- Quinn AG, Epstein E Jr. Patched, hedgehog, and skin cancer. *Methods Mol Biol* 2003; 222: 85-95.
- Athar M, Tang X, Lee JL, Kopelovich L, Kim AL. Hedgehog signaling in skin development and cancer. *Exp Dermatol* 2006;15: 667-77.
- Eichberger T, Regl G, Ikram MS, Neill GW, Philpott MP, Aberger F, Frischauf AM. FOXE1, a new transcriptional target of GLI2 is expressed in human epidermis and basal cell carcinoma. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1180-7.
- Ling G, Ahmadian A, Persson A, Undén AB, Afink G, Williams C et al. PATCHED and p53 gene alterations in sporadic and hereditary basal cell cancer. *Oncogene* 2001; 20: 7770-8.
- Couvé-Privat S, Bouadjar B, Avril MF, Sarasin A, Daya-Grosjean L. Significantly high levels of ultraviolet-specific mutations in the SMOothened gene in basal cell carcinomas from DNA repair-deficient xeroderma pigmentosum patients. *Cancer Res* 2002; 62: 7186-9.
- Rubin L, de Sauvage FJ. Targeting the Hedgehog pathway in cancer. *Nat Rev Drug Disc* 2006; 5: 1026-33.
- Stanton BZ, Peng LF. Small-molecule modulators of the Sonic Hedgehog signaling pathway. *Mol Biosyst* 2010; 6: 44-54.
- Incardona JP, Gaffield W, Kapur RP, Roelink H. The teratogenic Veratrum alkaloid cyclopamine inhibits sonic hedgehog signal transduction. *Development* 1998; 125: 3553-62.
- Athar M, Li C, Tang X, Chi S, Chi S, Zhang X, Kim AL et al. Inhibition of Smoothened signaling prevents ultraviolet B-induced basal cell carcinomas through regulation of Fas expression and apoptosis. *Cancer Res* 2004; 64: 7545-52.
- Tremblay MR, Lescarbeau A, Grogan MJ, Tan E, Lin G, Austad BC et al. Discovery of a potent and orally active hedgehog pathway antagonist (IPI-926). *J Med Chem* 2009; 52: 4400-18.
- Von Hoff DD, LoRusso PM, Rudin CM, Reddy JC, Yauch RL, Tibes R et al. Inhibition of the Hedgehog pathway in advanced basal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361: 1164-72.
- De Smaele E, Ferretti E, Gulino A. Vismodegib, a small-molecule inhibitor of the hedgehog pathway for the treatment of advanced cancers. *Curr Opin Investig Drugs* 2010; 11: 707-18.
- Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature* 2001; 411: 349-54.
- Cooper MK, Wassif CA, Krakowiak PA, Taipale J, Gong R, Kelley RI, Porter FD, Beachy PA. A defective response to Hedgehog signaling in disorders of cholesterol biosynthesis. *Nat Genet* 2003;33:508-13. Erratum in: *Nat Genet* 2003; 34: 113.
- Dellavalle RP, Drake A, Graber M, Heilig LF, Hester EJ, Johnson KR, McNealy K, Schilling L. Statins and fibrates for preventing melanoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2005: CD003697.
- Brüggemann LW, Queiroz KC, Zamani K, van Straaten A, Spek CA, Bijlsma MF. Assessing the efficacy of the Hedgehog pathway inhibitor vitamin D3 in a murine xenograft model for pancreatic cancer. *Cancer Biol Ther* 2010; 10.
- Schnidar H, Eberl M, Klingler S, Mangelberger D, Kasper M, Hauser-Kronberger C et al. Epidermal growth factor receptor signaling synergizes with Hedgehog/GLI in oncogenic transformation via activation of the MEK/ERK/JUN pathway. *Cancer Res* 2009; 69: 1284-92.