

Terapias moleculares dirigidas en los pacientes con cáncer: logros y perspectivas

Víctor Manuel Valdespino-Gómez^{a*} y Víctor Edmundo Valdespino-Castillo^b

^aUnidad Xochimilco, Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad de Medicina Genómica, Hospital General de México, Secretaría de Salud, México D.F., México

^bHospital General de Zona 1, Instituto Mexicano del Seguro Social. Clínica Hospital "Dr. Patricio Trueba Regil", Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, Campeche, Camp., México

Recibido en su versión modificada: 28 de septiembre de 2007

Aceptado: 28 de septiembre de 2007

RESUMEN

Los avances recientes en la patogénesis molecular del cáncer han permitido descubrir y desarrollar estrategias basadas en la utilización de moléculas con actividad biológica específicas o terapias moleculares dirigidas (TMD). El cáncer es un proceso complejo debido a la acumulación de mutaciones y alteraciones en el genoma. Las células tumorales parecen depender de una continua desregulación de una o varias vías de señalamiento intracelular. El conocimiento integral de estas vías logrará descifrar la biología de trasfondo de la mayoría de los cánceres. Las tecnologías de punta en genómica y proteómica pueden ayudar a identificar la respuesta in vitro e in vivo del interventionismo de las TMD, las cuales comprenden agentes que bloqueando los oncogenes o las vías oncogénicas de señalamientos, pueden secundariamente detener la carcinogénesis y la progresión tumoral. Revisamos los conceptos de adicción oncogénica, de rúbrica de la vía oncogénica, algunas tecnologías, los resultados obtenidos con TMD en pacientes con cáncer que no responde a tratamiento convencional, y las limitaciones y perspectivas de esta nueva estrategia. Potencialmente, la TMD conseguirá mayor desarrollo a través de identificar un número progresivo de oncogenes blanco-moleculares y sus correspondientes agentes bloqueadores. Se requiere mejorar los criterios de diseño, ejecución y valoración clínicos en la aplicación de protocolos con terapias moleculares dirigidas.

SUMMARY

Recent advances and insights into the molecular pathogenesis of cancer provide unprecedented opportunities for discovery and development of molecularly target-therapeutic (MTT) strategies. Cancer is a complex process due to accumulation of multiple mutations and alterations in the genome. Tumor cells seem to rely heavily on the continued deregulation of one or more signaling pathways. Complete identification on cell signaling deregulations have provided greater understanding on the biology that underlies most cancers. High-throughput technologies in genomics and proteomics can help to detect the response in vitro and in vivo of targeted MTT effects. Cancer MTT are drugs blocking specific oncogenes or oncogenic signaling pathways and can secondary block off the growth and spreading involved in carcinogenesis and tumor progression. In this paper we revised concepts of oncogene addiction, oncogenic pathways signature and commented the high-tech technologies related to their study. Also we revised the favorable clinical results using new MTT strategies for hard-to-treat cancers in the last year, and the limitations and perspectives to achieve more effective targeted cancer therapy results. Identification of a progressive number of molecularly targeted oncogenes and their corresponding blocking agents will give cancer MTT strategies great potential for development in the next years. Novel biologic endpoints and innovative clinical designs are also required to the successful application of the therapies.

Palabras clave:

Cáncer, terapia molecular dirigida, vías oncogénicas de señalización

Key words:

Cancer, targeted cancer therapy, oncogenic pathway signatures

El cáncer es una enfermedad compleja multifactorial en la cual se han identificado condiciones poligénicas y poliepigénicas; estas últimas probablemente inducidas por ciertos estilos de vida y exposiciones ambientales. Diferentes alteraciones genéticas que participan en el desarrollo y progresión del cáncer incluyen delecciones, amplificaciones, mutaciones puntuales del ADN y rearreglos cromosómicos. La identificación a través de investigación preclínica de una

gama de moléculas esenciales y específicas relacionadas con la carcinogénesis y la progresión tumoral en cada uno de los modelos tumorales, ha conducido a desarrollar nuevos agentes anticancerosos, muchos de los cuales están siendo trasladados a la investigación clínica.

Lo cautivante del uso de las tecnologías genómicas y proteómicas emergentes en los diversos cánceres, es su potencial de identificar nuevos biomarcadores para predecir

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Víctor Valdespino-Gómez. Ángel Urraza 517, Col. Del Valle, Del. Cuauhtémoc, 03100 México D.F., México. Correo electrónico: valdespinov@yahoo.com

cómo responderán a los tratamientos convencionales y particularmente a las nuevas terapias blanco-moleculares.

Aunque los pacientes con un tipo y etapa clínica particular son a menudo tratados de una misma forma, cada uno puede representar una patofisiología molecular diferente y requerir tratamientos más específicos.

Las terapias moleculares dirigidas (TMD) en cáncer, o terapias blanco-moleculares, se refieren a drogas contra el cáncer que interactúan con blancos moleculares específicos situados funcionalmente en distintas vías intracelulares que conducen al crecimiento tumoral o progresión. La selección de los blancos adecuados debe estar basada en un detallado conocimiento de las alteraciones que conducen a la tumorigénesis y a la progresión tumoral. Las TMD contrastan con la estrategia tradicional de emplear terapias citotóxicas no específicas. La terapia blanco-molecular promete ser más selectiva, dañar menos a las células normales, reducir los efectos secundarios a la terapia y mejorar la calidad de vida. El Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos cuenta con el Programa para desarrollar blancos moleculares (MTDP), el cual trabaja en la búsqueda, desarrollo e investigación de blancos moleculares específicos de vías oncogénicas de señalamiento intracelular. La página web del MTDP está disponible en <http://home.ncifcrf.gov/mtdp/>

Los primeros ejemplos de éxito clínico con TMD fueron el ácido holotransretinoico en pacientes con leucemia promielocítica aguda, y el imatinib en pacientes con leucemia mielocítica crónica y pacientes con tumores del estroma gastrointestinal. En ensayos clínicos, la aplicación de ácido holotransretinoico como producto único alcanzó una tasa de remisión completa de 90% (aunque frecuentemente se presenta recaída a los seis meses) y aquellos con imatinib, respuesta hematológica completa de 97% y respuesta citogenética completa en 76% en leucemia mielocítica crónica.¹ En el cuadro I se enlistan los agentes aprobados por la Food Drug Administration contra blancos moleculares en el tratamiento contra el cáncer.

El objetivo del presente artículo es revisar los logros, limitaciones y expectativas de la terapia molecular dirigida en pacientes con cáncer. Se enumeran algunos conceptos recientes de la patofisiología tumoral, las principales metodologías biomédicas para identificar blancos moleculares en los modelos de cáncer, algunas adecuaciones clínicas para implementar ensayos clínicos con TMD, así como principales avances y perspectivas en pacientes con cáncer empleando esta modalidad terapéutica.

Necesidad de nuevos tratamientos en pacientes con cáncer refractario

En los pacientes con tumores sólidos con diseminación metastásica, con excepción de aquellos con cáncer testicular, la enfermedad permanece virtualmente incurable a pesar del tratamiento convencional. Debido a que el interventionismo terapéutico dirigido a blancos moleculares se encuentra en las primeras etapas de su desarrollo, la selección del agente molecular o la combinación de ellos en el

Cuadro I. Agentes aprobados previamente por la FDA contra blancos moleculares en el tratamiento del cáncer.

| Medicamento | Blanco molecular | Tipo de tumor comercial | Nombre |
|-------------|---------------------------|--|-----------|
| Anastrozole | Receptor estrogénico (RE) | Cáncer de mama RE-positivo | Arimidex |
| Bevacizumab | VEGF | Cáncer de colon metastásico | Avastin |
| Bortezomib | Proteosoma | Mieloma múltiple avanzado | Velcade |
| Cetuximab | EGFR | Cáncer de cabeza y cuello avanzado | Erbitux |
| Erlotinib | EGFR | Cáncer de pulmón NCP avanzado | Tarceva |
| Exemestane | RE | Cáncer de mama RE-positivo | Aromasin |
| Geftinib | EGFR | Cáncer de pulmón avanzado | Iressa |
| Imatinib | BCR-ABL, KIT | L. Mieloide crónica, tumores estromales gastrointestinales | Gleevec |
| Sorafenib | Raf, VEGF, KIT, FLT3 | Cáncer de riñón avanzado | Nexavar |
| Tamoxifen | RE | Cáncer de mama RE-positivo | Novaldex |
| Trastuzumab | ERBB2 | Cáncer de mama ERBB2-positivo | Herceptin |

FDA=Food Drugs Administration de Estados Unidos de Norteamérica.

paciente con cáncer, guarda todavía diferentes niveles de empirismo.

La identificación de nuevos biomarcadores moleculares en los pacientes con cáncer ha iniciado una nueva era en la cual los médicos no solo seleccionarían los tratamientos basados en los perfiles epidemiológicos convencionales de la población, sino en las características moleculares específicas del individuo y su tumor.

Conceptos recientes en la patofisiología del micro y nanoambiente tumoral

Diferentes rutas etiológicas de los modelos tumorales.

Aunque cada uno de los diferentes 200 tipos de cánceres humanos se presenta por la acumulación de cambios genéticos y epigenéticos en oncogenes, genes supresores tumorales y en genes que estabilizan el ADN, la etiología de un tipo específico de cáncer puede tener diferente ruta.

Algunos genes están involucrados en el desarrollo del tumor y otros promueven la diseminación de las células cancerosas a otros órganos.² Por ejemplo, el carcinoma escamoso de cabeza y cuello (CEACC) muestra dos rutas

etiológicas: la química asociada al estilo de vida (abuso de tabaco y alcohol) y la viral, asociada a infección persistente por virus del papiloma humano oncogénicos (VPH).^{3,4} Se ha demostrado que el proceso de carcinogénesis en ambos tipos son genéticamente diferentes; el grupo CEACC-VPH positivo no muestra mutaciones de p53, y cursa con pérdidas alélicas mínimas en 3p, 9p y 17p, mientras que el grupo CEACC-VPH negativo muestra mutaciones en p53 (75%), y cursa con pérdidas marcadas en áreas de los cromosomas 3p11.2-26.3, 5q11.2-35.2, 9q21.1-24 y 18q12.1-23, y amplificación marcada en 11q12.1-13.4.⁴ Ello implica que en los CEACC, por lo menos dos vías intracelulares diferentes causan la carcinogénesis, por lo que el patrón de oncogenes predominantes es diferente. En la progresión tumoral hay alteraciones genéticas comunes en ambos tipos. La identificación de la ruta etiológica en los pacientes con CEACC ayudaría eventualmente a escoger por lo menos dos estrategias diferentes de TMD en este grupo de pacientes.

Otro ejemplo reciente fue el estudio de Gupta⁵ y col (2007) sobre genes marcadores de la diseminación metastásica pulmonar en líneas celulares tumorales y células metástasicas de efusión pleural de pacientes con cáncer mamario, en el cual demostraron que cuando la epiregulina (uno de los ligandos del EGFR), la ciclooxygenasa COX2 y las metaloproínasas de matriz 1 y 2 son sobreexpresadas (colectivamente) en las células de cáncer mamario, facilitan la angiogénesis, la liberación de las células a la circulación y su penetración a los capilares pulmonares. Estos hallazgos revelaron que patrones específicos de expresión de genes en las células tumorales se asocian con elevados potenciales de diseminación metastásica pulmonar. Este grupo de genes marcadores de diseminación metastásica pueden ser el blanco para la terapia molecular dirigida.

Microambiente tumoral interconectado. Participación de los principales grupos celulares

En el microambiente del tumor, además de las células neoplásicas intervienen otras en la progresión del cáncer; entre ellas las células madre tumorales (*tumor-stem cells*), las de respuesta inflamatoria/inmunológica, los fibroblastos del estroma, las células de angiogénesis y las células normales. Todas intercambian señales moleculares con las células del tumor a través de la liberación de factores de crecimiento, citocinas, proteasas y otras moléculas bioactivas.⁶

Células madre tumorales. Datos recientes sugieren que la mayoría de los cánceres se originan de células madre tumorales, biológica y numéricamente distintas a su progenie diferenciada. En el modelo de la leucemia mielocítica crónica representan menos de 0.1% de la población tumoral. Sólo en escasos modelos tumorales se han identificado células madre tumorales: en las leucemia mieloide aguda, linfoblástica aguda y mieloide crónica, y más recientemente en mieloma múltiple (2003), en los cánceres de mama (2003) del sistema nervioso central (2004) y de próstata (2005).

Probablemente por sus semejanzas, las células madre tumorales derivan de las células madre normales mutadas o

de su progenie mutadas en las primeras etapas de diferenciación. Las células madre tumorales conservan las propiedades de autorrenovación, proliferación, generación de células diferenciadas, de estados prolongados de quiescencia, plasticidad, y adquieren fenotipos asociados a la progresión tumoral, de inestabilidad genética y de resistencia a drogas (debido a su elevada actividad de transportadores transmembranales de multidrogas).^{7,8} El aislamiento de las células madre tumorales se basa en la identificación de marcadores de superficie (por ejemplo CD34⁺CD38⁻ en leucemia mieloide aguda, y CD44⁺CD24^{-low} en cáncer de mama).⁹ Las diferentes vías de señalización que promueven la autorrenovación celular y que regulan negativamente la proliferación celular se mantienen activas en las células madre normales y en las cancerosas. Las vías de Wnt, Notch y Hedgehog (de autorrenovación) y las vías BMP y TGF-β (que regulan negativamente la proliferación) se encuentran desreguladas en las células madre tumorales; eventualmente estas vías de señalización podrían ser blanco molecular para dirigir el interventionismo terapéutico.¹⁰

Células de la respuesta inflamatoria/inmunológica. En el proceso de carcinogénesis y progresión tumoral se establece un entrecruzamiento de señales entre los factores intrínsecos de la célula tumoral con las células efectoras locales del sistema inmunológico. Numerosas células efectoras y moléculas de la inmunidad innata y adaptativa participan en el reconocimiento y destrucción de las células tumorales. Sin embargo, las células cancerosas evitan la reacción inmunológica antitumoral a través de su conversión en células pobremente inmunogénicas (selección) y en perturbar la respuesta inmunológica (subversión).¹¹ Como más adelante comentaremos, la densidad y el tipo de infiltrado inflamatorio en el tumor son un importante biomarcador de respuesta inmunológica antitumoral.

Células del estroma. Los carcinomas están constituidos por células parenquimatosas y células estromales. Las células tumorales pueden inducir diferenciación de los miofibroblastos y generar una reacción estromal desmoplástica intensa; asimismo, las células estromales (miofibroblastos) son capaces de influir en el fenotipo de invasividad, progresión y capacidad de metastatizar. Los elementos del parénquima y del estroma interactúan en forma muy compleja, y recíprocamente pueden influir en sus comportamientos biológicos.¹²

Receptores, vías de señalización intracelular y genes efectores

El sistema de circuitos que regulan la traducción de señales y la expresión génica en las células neoplásicas es diferente en cada tipo de cáncer (proliferación, inhibición del crecimiento, diferenciación, apoptosis). En las células cancerosas, un oncogene puede desempeñar un papel esencial o cualitativamente diferente en una vía dada. Así, las células tumorales pueden ser mucho más dependientes de la actividad de un oncogene específico que las células normales.¹³

Así por ejemplo, uno de los más excitantes desarrollos en la investigación del cáncer en los últimos años ha sido la validación clínica de las drogas dirigidas molecularmente que inhiben la acción patogénica de las tirosina-cinasa-

mutadas (PTCM). Estas enzimas regulan múltiples procesos celulares que contribuyen al desarrollo y progresión del cáncer, incluyendo sobrevida, proliferación celular, diferenciación, apoptosis, resistencia a drogas citotóxicas, incremento de angiogénesis, invasividad y potencial de metastatizar. El genoma humano codifica 90 proteínas con dominios de tirosina-cinasa; 27% de los 364 genes que causan cáncer registrados actualmente (Censo de genes del cáncer humano en *Cancer Genome Project*)^{14,15} codifica dominios de cinasas. Cerca de un tercio de la familia de las proteínas tirosina-cinasa y algunas proteínas serina/treonina-cinasa están implicadas en el cáncer. Varios de los diferentes mecanismos de la activación de proteincinasas en cáncer han sido esclarecidos. Los mecanismos mejor caracterizados son que la activación de las cinasas provoca rearreglos conformacionales de las propias cinasas, activación de proteínas vecinas o mutaciones puntuales en regiones reguladoras de otras cinasas.¹⁶

Para los tumores cuyo crecimiento está provocado por estas PTCM activadas, las drogas dirigidas contra ellas pudieran potencialmente inhibir o revertir la progresión tumoral.^{17,18}

En cáncer, los mecanismos de desregulación de las PTCM se ubican en múltiples niveles. Un mecanismo frecuente es la fusión de una PTCM-receptor o una PTCM-no receptor con alguna proteína anómala que provoque una oligomerización constitutiva de tirosina-cinasa en ausencia de su ligando (por ejemplo, BCR-ABL, por translocación cromosomal balanceada, resultando un gen químérico). Otro importante mecanismo es que la mutación perturbe la autorregulación de la cinasa y la active en ausencia de su ligando (por ejemplo, FLT3 en leucemia mieloide aguda y EGFR en algunos cánceres pulmonares de células no pequeñas). Un tercer mecanismo es un incremento o la expresión errónea de un receptor tirosina-cinasa, de su ligando, o de ambos (por ejemplo, HER-2/neu en cáncer de mama y factor de crecimiento derivado de las plaquetas mutante en dermatofibrosarcoma *protuberans* con t[11;17]). Otros mecanismos menos frecuentes implican disminución de la expresión de factores que limitan la función de la tirosina-cinasa, como tirosina-fosfatases o proteínas inhibidoras específicas.¹⁶

La activación de las vías de señalización intracelulares de los receptores de las tirosina-cinasa puede ser regulada en múltiples niveles: por las moléculas específicas que participan, por la duración de las señales y, finalmente, por la activación de los genes efectores. Relacionado a esto, Schamhl y colaboradores¹⁹ identificaron la compleja red de genes que funcionan como efectores en las vías intracelulares de señalización del factor de crecimiento derivado de las plaquetas. En ese estudio, 12 genes blanco de esta vía de señalización participaron en procesos fenotípicos específicos (morfogénesis de vasos sanguíneos, de riñón, de áreas del esqueleto y en migración celular). Esto ejemplifica que la activación de un receptor tirosina-cinasa conlleva a la activación de una o varias vías de señalización intracelulares (por ejemplo, Ras, MAPK, PI3K) y a la activación de varios genes (por ejemplo, Zfand5m, BCO58969, Myole, Arid5b, etc.), cuyo efecto fue modificar el fenotipo celular/tisular.

Estrategias de amplia cobertura para la identificación del número de copias y transcriptos de oncogenes y genes supresores en el genoma de las células tumorales

Empleo de SNP como reporteros. Una de las aportaciones de la secuenciación del genoma humano demostró que 99.9% del ADN de las diversas poblaciones humanas es idéntico, y que en el resto (0.1%) se presentan variaciones en la secuencia. La variación identificada más frecuente en el genoma humano correspondió a la sustitución de un simple nucleótido por otro (por ejemplo, C por G) en la cadena de ADN, denominada *polimorfismos de un solo nucleótido (single-nucleotide polymorphisms, SNP)*. Los SNP distribuidos en el genoma son muy abundantes (6 a 10 millones en todo el genoma). El diferente patrón de distribución y diversidad de los SNP en el ADN de los individuos se asocia con riesgos relativos de susceptibilidad a enfermedades, de respuesta individual a medicamentos, etc. Los diferentes SNP pueden localizarse intragénicos (localizados en exones) e intergénicos (localizados en intrones).²⁰

El Proyecto Internacional HapMap (www.hapmap.org) identificó y registró las similitudes y diferencias de las secuencias génicas en diferentes poblaciones, realizando el mapeo de los SNP en el genoma humano (genotipificación con microarreglos de ADN de alta densidad, de 500 mil SNP). Esto fue efectuado en 270 muestras de cuatro poblaciones diferentes en el mundo, y permitió construir un mapa de haplotipos poblacionales, describiendo su ubicación y distribución intra e interpoblacional (esta determinación no pretende identificar genes asociados a enfermedades). En México, el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) inició en 2005 un estudio similar al del HapMap, con muestras de la población mexicana de seis estados de la República.²¹ Este mapa podrá ser consultado gratuitamente a finales del 2007 en www.inmegen.org.mx

Diferentes grupos han empleado microarreglos de ADN en la tipificación de la secuencia del genoma en los diferentes modelos de cáncer para explorar y ubicar genes reporteros asociados a su carcinogénesis y progresión tumoral (con microarreglos de ADN de 10, 100, y 500 K de SNP). Así, por ejemplo, Liu y colaboradores²² encontraron desequilibrios específicos de patrones alélicos recurrentes (355 pérdidas y 223 ganancias en número de copias de alelos en diferentes regiones del ADN tumoral) en pacientes con cáncer de próstata con progresión y pobre diferenciación. Otro reciente ejemplo es el estudio de Mullighan y colaboradores,²³ en el cual tipificaron las alteraciones del genoma en 242 pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. En 40% de este grupo encontraron alteraciones genómicas específicas en los genes que regulan el desarrollo y diferenciación de los linfocitos B, siendo el gen PAX5 el más frecuentemente alterado por mutación somática. En nuestro medio, el grupo de Medicina Genómica del Hospital General de México trabaja en la búsqueda de asociaciones génicas y patrones de expresión en los procesos de iniciación y progresión del cáncer cervicouterino con similar tecnología (Berumen y colaboradores, comunicación personal).

Otra utilidad de la identificación de SNP es usarlos como marcadores de polimorfismos de enzimas que metabolizan medicamentos (por ejemplo, la metilentetrahidrofolato reductasa para el 5-fluorouracilo) o que funcionan como transportadores de drogas al compartimiento intracelular; lo cual permitiría entender las diferencias interindividuales de respuesta a las drogas.^{24,25}

Otra estrategia, y quizás una de las más importante del uso de los microarreglos de ADN, es utilizarlos para analizar la expresión de los oncogenes en los diferentes modelos de cánceres por medio de la identificación de sus transcritos (ARNm), empleando oligonucleótidos complementarios (ADNc). Este análisis comparativo de la expresión de los genes identificados en la iniciación y progresión tumoral, ha logrado establecer nuevas clasificaciones moleculares de los tumores malignos. Los resultados de estas investigaciones son depositados frecuentemente en bases de datos accesibles al público.^{26,27} Los primeros perfiles de expresión de oncogenes y genes supresores fueron obtenidos a partir de estudios supervisados (pacientes conocidos, con cánceres caracterizados), lo cual permitió establecer asociaciones con sus características fenotípicas. Un ejemplo fue el realizado por van't Veer y colaboradores²⁸ relacionado con el seguimiento clínico de pacientes con cáncer de mama. La expresión diferencial de 5000 genes involucrados en el ciclo celular, invasividad, metástasis, angiogénesis (por ejemplo, ciclina E2, MCM6, MMP9, MP1, RAB6B, PK428, etc.), indicó que el pronóstico de pacientes con cáncer de mama T1 o T2, N0, puede asociarse al perfil de expresión génica del tumor primario. Este y otros múltiples estudios similares han generado novedosas clasificaciones que enriquecen a las previas. A estos éxitos preliminares de clasificación de los tumores sólidos mediante la aplicación de microarreglos de expresión, podrán adicionarse a corto plazo estudios similares en proteómica y de perfil metabólico, los cuales serán elementos potenciales para mejorar dichas clasificaciones.²⁷

Los estudios del perfil de proteínas usando microarreglos son más recientes que los que identifican ADN. Comparados con los de los microarreglos de ADN, su poder de identificar numéricamente proteínas a gran escala es aún limitado, debido a la falta de agentes de identificación, como anticuerpos específicos. Más todavía: debido a que las proteínas sufren numerosas modificaciones postradicionales, en ocasiones ello limita su reconocimiento por medio de proteínas recombinantes o anticuerpos.²⁹

Oncogenes críticos para el desarrollo y el mantenimiento del fenotipo tumoral (dependencia o adicción del modelo tumoral por uno o algunos oncogenes)

Hasta ahora, solo en muy escasos ejemplos de modelos de cáncer han sido identificados oncogenes críticos para el desarrollo y mantenimiento del fenotipo tumoral, cuya neutralización de uno o pocos de ellos puede inhibir el crecimiento de las células tumorales y en muchas ocasiones conducir a respuestas clínicas objetivas.

Weinstein y Joe¹³ denominaron adicción oncogénica de un cáncer hacia un gen a la participación protagónica de uno o varios oncogenes para mantener el fenotipo de malignidad, en cada uno de los modelos tumorales. El paradigma funcional de la adicción oncogénica (dependencia oncogénica) es que estos oncogenes tergiversan las vías intracelulares de señalamiento condicionando la iniciación y progresión tumoral. Una de las maneras experimentales *in vitro* de identificar o probar la adicción oncogénica, es tratar de inhibir el crecimiento de líneas celulares de cáncer humano, bloqueando la expresión de dichos oncogenes con estrategias de oligonucleótidos antisentido o mediante la interferencia de sus secuencias con ARN de bajo peso molecular (siARN).³⁰

La marcada eficacia terapéutica de algunos compuestos inhibidores de PTCM, proporcionó la evidencia directa del concepto de adicción oncogénica. Algunos de estos ejemplos incluyen al imatinib, cuyo blanco son las proteínas oncogénicas BCR-ABL y c-KIT, y gefitinib y erlotinib, cuyo blanco es el EGFR (en carcinoma pulmonar de células no pequeñas, cáncer pancreático y glioblastoma).³¹

Sin embargo, dado que la mayoría de los tumores sólidos avanzados son genéticamente complejos, es poco probable que un tumor específico sea totalmente dependiente de un solo oncogene o de una vía de señalización para su comportamiento maligno (existe además comunicación cruzada entre las distintas vías de regulación de proliferación, tráfico y sobrevivencia). Por ello y en analogía al uso de agentes de quimioterapia convencional, donde los esquemas de tratamiento combinado son a menudo más efectivos, con el empleo de combinaciones de agentes dirigidos a varios blancos moleculares probablemente se logre obtener un efecto más potente que con agentes únicos.^{1,32}

¿Cómo identificar los oncogenes críticos que mantienen el fenotipo tumoral en un modelo específico de cáncer? La respuesta no está establecida en la actualidad, sin embargo, existen ciertas orientaciones para seleccionarlos. Por ejemplo, los candidatos serían los oncogenes amplificados y expresados con mayor intensidad en el modelo tumoral (>50%), que sufrieron mutaciones durante el proceso polietápico del desarrollo tumoral, particularmente en las etapas de iniciación y progresión (no simplemente sobreexpresados, o con anomalías epigenéticas), o que sean expresados tanto en las poblaciones de las células madre tumorales como en la progenie celular tumoral.^{1,10,13}

El concepto de adicción oncogénica podría ser también aplicable en las interacciones celulares del microambiente del tumor y en los procesos de invasión y de metástasis.

La identificación de la vía oncogénica (rúbrica de los tumores) en los modelos tumorales como una guía para la terapia blanco-molecular

La acumulación de mutaciones y alteraciones múltiples en el genoma de la célula cancerosa subyace en la complejidad de su fenotipo. La secuencia, estructura, variación epigenética y expresión del genoma de la célula cancerosa, afectan la

progresión tumoral, el proceso de metástasis, la respuesta a drogas y el desenlace clínico de la enfermedad. Una consecuencia de estas alteraciones es la desregulación de varias vías celulares de señalización que controlan la función de la célula.

Los estudios para determinar el perfil molecular, particularmente los análisis con microarreglos de ADN, tienen el potencial de describir dicha complejidad.^{27,33}

Su aplicación permite dejar al descubierto fenotipos del proceso oncogénico estructuralmente complejos y funcionalmente distintos (por ejemplo, subfenotipos, ruta etiológica, selección de blanco molecular, predicción de sensibilidad hacia las drogas, etc.). Particularmente en las células tumorales, el patrón de expresión diferencial de genes específicos (ARNm) ubicados con las vías oncogénicas de señalamiento (alrededor de 12 vías), le da la rúbrica de su expresión oncogenómica (*oncogenomic signature*). Sin embargo, cada vía puede ser activada en diferentes puntos, por lo que no es fácil precisar el punto de alteración de la vía de señalización con solo determinar las mutaciones o la expresión de los genes conocidos asociados al cáncer (oncogenes y genes supresores tumorales). El agrupamiento de los tumores basado en su perfil de expresión oncogénica (*oncogenic pathway signature*) mejora la predicción del pronóstico en pacientes con cáncer en etapas clínicas similares (de acuerdo a la UICC y a la AJCC).³⁴⁻³⁶

La predicción de la vía oncogénica desregulada en las líneas celulares tumorales y en muestras tumorales ha demostrado que también permite la predicción de la sensibilidad/resistencia al uso de agentes quimioterapéuticos individuales.³⁵ Zhang estudió la expresión de 35 transportadores-ABC (ATP-binding cassette, relacionados con la resistencia a multidrogas) midiéndola en líneas celulares y en muestras de cáncer con ensayos de microarreglos y PCR cuantitativa, encontrando que los diferentes polimorfismos de los transportadores-ABC se asocian a la sensibilidad/resistencia de las diferentes drogas contra el cáncer.³⁷

La capacidad de determinar la desregulación de diferentes vías oncogénicas a través del análisis de la expresión de genes (rúbrica oncogénica), ofrece la oportunidad de identificar nuevas opciones terapéuticas para los pacientes empleando drogas dirigidas a moléculas de vías específicas.^{38,39}

Los avances en la teoría de redes y biología tumoral de sistemas aplicados al análisis de los resultados de ensayos comparativos de microarreglos de genómica y proteómica entre el tejido normal, el tejido tumoral y los subtipos específicos de cáncer, favorecerán la identificación de la adicción de los diferentes modelos de cáncer con oncogenes específicos, para con ello guiar el uso de agentes moleculares dirigidos.^{38,40}

Metodologías recientes para valorar la biología tumoral relacionada con la terapia de agentes moleculares dirigidos

Estudio molecular de la citogenética tumoral. Gracias a la confluencia de la secuenciación del genoma y la revolución

digital, la genotipificación del ADN de interés puede ser relativamente factible y rápida en la actualidad. Dos potentes metodologías para el estudio molecular citogenético fueron desarrolladas en la última década: la hibridación genómica comparativa y los microarreglos de ADN. Ambas permiten la identificación de los cambios numéricos de copias en segmentos del ADN (ganancia/pérdida, amplificación).

La hibridación genómica comparativa utiliza cientos o miles de sondas de cromosomas artificiales bacterianos y permite explorar segmentos de ADN mayores de 1 Mb. En los últimos años una segunda generación denominada hibridación genómica comparativa basada en microarreglos (CGH-m) alcanzó un mayor nivel de resolución (entre 1 Mb a cientos de Kb).⁴¹ Mediante esta metodología se pueden identificar los desequilibrios genómicos de un segmento cromosómico (ganancias o pérdidas) en las citobandas cromosómicas, y correlacionar estas alteraciones con amplificaciones y delecciones de los genes ubicados localmente (empleando la base de datos del *Human Genome Project* para su ubicación). Lockwood y colaboradores⁴² examinaron el genoma de ocho líneas celulares de cáncer del cuello uterino empleando la CGH-m. Sus observaciones demostraron 27 alteraciones en pequeñas regiones distribuidas en su ADN, comunes en la mayoría de las líneas celulares y particularmente la amplificación de la citobanda 11q22 (relacionada a la coamplificación de los genes BIRC y MMP).

La exploración del ADN humano mediante ensayos de microarreglos con SNP (100 K, 500 K) ofrece además la posibilidad de registrar simultáneamente el número de copias de los eventos de la pérdida de heterocigocidad de las alteraciones somáticas y germinales que ocurren en un tumor (principalmente en los genes supresores tumorales). Se estima en promedio la presentación de un SNP por cada 500 nucleótidos, y de 25 SNP por cada gen. Algunos SNP específicos pueden servir como marcadores de alelos de diferentes poblaciones susceptibles al cáncer, y de patrones de expresión génica de diferentes oncogenes ligados al fenotipo tumoral.⁴³ Los recientes métodos de genotipificación con microarreglos de ADN logran identificar 100 mil y 500 mil SNP simultáneamente en una sola corrida (nivel de resolución de 24 Kb).^{44,45} El análisis de millones de datos del resultado de estas determinaciones requiere el empleo de herramientas bioinformáticas potentes capaces de generar datos funcionales, por ejemplo, normalización de datos, organizar grupos jerárquicos, determinar distancias métricas y semimétricas, etc.⁴⁶

Los microarreglos de expresión del ADN permiten identificar los transcritos o ARN mensajeros expresados por las células tumorales (comparativamente con células sanas) basados en la aplicación de la RT-PCR. Los datos son analizados por algoritmos bioinformáticos complejos para determinar el perfil de expresión génica.⁴⁷

Tubos de ensayo celulares para valorar el efecto de las tirosina-cinasas. Como más adelante lo comentaremos, las proteincinasas mutadas pueden funcionar como oncogenes dominantes en algunos tumores, y por ello diversas moléculas inhibidoras de PTCM se emplean exitosamente como tratamiento clínico. Una herramienta útil para la evaluación

preclínica de estas pequeñas moléculas inhibidoras es el uso de las células Ba/F3, las cuales gracias a su fenotipo sirven de tubo de ensayo para ello. Las células Ba/F3 son una línea celular hematopoyética (pro B) murina (Balb/c) dependiente para su crecimiento de interleucina 3 (IL-3). La transfección retroviral de las células Ba/F3 con BCR-ABL permite su crecimiento independiente de IL3. Por estas propiedades, las células Ba/F3 pueden ser usadas para evaluar el potencial terapéutico y los mecanismos de resistencia de las moléculas inhibidoras de PTCM, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*.⁴⁸

Estudio de estructura y funcionamiento de las oncoproteínas. La proteómica puede ser descrita como el estudio de todas las proteínas expresadas por un organismo, define su identidad, cantidad, estructura y funciones en los diferentes contextos celulares. El estudio de la proteómica ha promovido un mejor entendimiento de los procesos celulares normales y de enfermedad, ha desarrollado nuevas biomarcas para el diagnóstico y la detección temprana de las enfermedades, y ha favorecido y acelerado el desarrollo de medicamentos. El proteoma humano está constituido aproximadamente de 500 mil a un millón de proteínas, y comparando su organización con la del genoma humano, es más diverso en estructura, función y variedad dinámica. Los métodos para el aislamiento, purificación y análisis de las proteínas son complejos, los tres más importantes son la electroforesis en geles de poliacrilamida de dos dimensiones, la cromatografía líquida multidimensional y la espectrometría de masas. Las dos primeras separan las moléculas con base en sus características físicas o de composición bioquímica (masa, carga eléctrica), la primera en fase sólida (gel) y la segunda en fase líquida, ambas pueden ser complementarias; luego sus productos son identificados por espectrometría de masas. La espectrometría de masas es el estándar de oro para identificar las proteínas y tiene como variantes la desorción con láser a través de una matriz (MALDI, *matrix-assisted laser desorption*), y la ionización electro-spray acoplada a analizadores.⁵⁹

Nuevas y recientes variantes en estudios de proteómica para identificar biomarcadores en cáncer han sido informadas, en una de ellos, a la que Hwang y colaboradores⁴⁹ denominaron análisis proteómico directo, en el cual fue identificada la expresión de 428 proteínas en tejido conservado en parafina de cáncer de próstata.

Nuevos criterios clínicos ayudan a valorar la respuesta de la TMD en los pacientes. Se requiere adicionar nuevos criterios clínicos en el diseño y evaluación de los protocolos actuales de terapia dirigida a blancos moleculares. Entre algunos de ellos, precisar la respuesta bioquímica terapéutica (por ejemplo, nivel de biomarcadores tumorales, inhibición del blanco molecular, inducción de apoptosis, inhibición de angiogénesis), así como emplear otros criterios no clásicos de respuesta clínica al tratamiento a los establecidos por la Organización Mundial de la Salud y por el Criterio de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST),⁵⁰ como el efecto en la calidad de vida, en la tasa de estatismo de la enfermedad, en el tiempo y tasa de progresión, en la respuesta clínica de los síntomas, etc.⁵¹

Obtención representativa de muestras de tejido tumoral. Para seleccionar los blancos en los ensayos de terapia dirigidos en el contexto molecular, conviene emplear metodologías más precisas para obtener una mejor muestra representativa de tejido para estudios genómicos y proteómicos; ello ha conducido a emplear estrategias de microselección de tejido. El uso de captura de tejido con microdissección con láser ha permitido obtener mayor cantidad de tejido representativo.²⁹

Imagenología funcional a nivel molecular. La tecnología en imágenes de apoyo al diagnóstico médico empleando biomarcadores tumorales permite al clínico no solo identificar dónde está localizado el tumor sino visualizar la expresión de la actividad de moléculas bioactivas específicas (por ejemplo, proteasas, proteincinasas) o de diversos procesos biológicos (por ejemplo, apoptosis, angiogénesis, metástasis) que influyen en el comportamiento tumoral o en la respuesta al tratamiento. A los tradicionales métodos de imagenología anatómica/funcional se han agregado otros nuevos,⁵² como la endoscopia microscópica confocal, que permite magnificar las imágenes del epitelio gastrointestinal; el empleo de nanopartículas magnéticas que administradas por vía sistémica ayudan a detectar metástasis en ganglios linfáticos (son fagocitadas por los macrófagos de los ganglios linfáticos); o la tomografía por emisión de positrones con ¹⁸F-deoxiglucosa y otros agentes radiomarcadores, como anticuerpos monoclonales, nucleósidos (compuestos de timidina, marcadores de proliferación celular), péptidos, pequeñas moléculas (inhibidores de proteína-cinasa), anexina-V (mide apoptosis), avb3 p o VCAM-1 (mide angiogénesis), con lo cual se pueden obtener imágenes funcionales dirigidas para la valoración del diagnóstico y respuesta terapéutica.⁵²

Terapias moleculares dirigidas empleando moléculas inhibitorias y anticuerpos monoclonales

Las PTCM pueden ser bloqueadas a través de dos principales mecanismos. El primero por medio de pequeñas moléculas orgánicas que inhiben directamente la actividad catalítica de la cinasa a través de interferir con el sitio de unión del ATP o con sus ligandos. Algunos de los inhibidores forman parte actualmente de los regímenes de tratamiento estándares de tipos específicos de tumores. Éstos incluyen al imatinib (dirigido contra la BCR-ABL y otras cinasas), erlotinib y gefitinib.^{1,17} El mesilato de imatinib (Gleevec), la 2-fenilaminopirimidina, es un compuesto inhibidor específico de varias PTCM (ABL, c-KIT y PDGFR) que induce remisiones completas hematológicas y citogenéticas en la mayoría de los pacientes en la fase crónica de la leucemia mielocítica crónica,^{16,17} y respuestas clínicas objetivas en más de la mitad de los pacientes con tumores del estroma gastrointestinal que contienen mutaciones en c-KIT.

Los señalamientos de los receptores PTCM pueden también ser inhibidos con anticuerpos monoclonales contra el receptor o contra su ligando. El receptor tirosina-cinasa,

ERBB2 o HER-2 es sobreexpresado en 20 a 25% de las pacientes con carcinoma mamario invasor o metastásico. El uso de trastuzumab (Herceptin), anticuerpo monoclonal humanizado recombinante contra HER-2, aumenta las tasas de respuesta clínica e incrementa la sobrevida cuando es agregado a los esquemas de quimioterapia en pacientes con cáncer mamario metastásico que sobreexpresan HER-2. Otros anticuerpos monoclonales contra EGFR como el cetuximab (Erbitux) combinado con irinotecan producen discreta mejoría en la sobrevida.¹⁷ El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) es esencial para la angiogénesis, y tanto el VEGFR-1 como el VEGFR-2 son sobreexpresados en muchos cánceres del pulmón, mama, próstata, riñón y colorectal. La adición del bevacizumab (Avastin), anticuerpo monoclonal humanizado anti-VEGF a irinotecan, fluoracilo y leucovorin, ha prolongado la sobrevida a los pacientes tratados con esta combinación.^{1,16}

A pesar del éxito inicial con el uso de inhibidores de tirosina-cinasas en los modelos de cáncer descritos, la mayoría de los pacientes que responden a este tratamiento desarrolla eventualmente resistencia a estas drogas. La resistencia puede ser causada por la amplificación del gen de la PTCM oncogénica o por segunda mutación del gen. Nuevas drogas han sido desarrolladas en relación a las PTCM con segundas mutaciones (Cuadro II).

Terapia blanco molecular en la plataforma de modulación de la respuesta inmunológica adaptativa

El objetivo de los tratamientos de inmunoterapia antitumoral es re establecer una eficiente respuesta inmunológica antitumoral.

A las seis marcas clásicas reconocidas de las células cancerosas (autosuficiencia en señales de crecimiento, insensibilidad para las señales anticrecimiento, evasión de apoptosis, potencial ilimitado de replicación, desarrollo de angiogénesis, invasión tisular y metástasis),⁵³ se ha reconocido una más, aquella por la cual los tumores desarrollan diferentes estrategias para escapar de la respuesta del sistema inmunológico.¹¹ Así, una estrategia que frecuentemente emplean los tumores para eludir la respuesta inmu-

Cuadro II. Inhibidores de tirosina-cinasas mutadas empleados en el tratamiento de algunos tipos de cáncer

| Tipo de cáncer | Dirigidos a la tirosina-cinasa | Inhibidor | |
|---------------------------------------|--------------------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | | Primera generación | Segunda generación |
| Leucemia mieloide crónica | BCR-ABL | Imatinib | Dasatinib |
| Tumores estromales gastrointestinales | c-KIT, PDGFR | Imatinib | Sunitinib |
| Cáncer mamario | HER2 | Trastuzumab | Lapatinib |
| Cáncer pulmonar | EGFR | Erlotinib, Gefitinib | Inhibidores no competitivos (EKB569) |

lógica mediada por los linfocitos T es disminuir la regulación o eliminar la expresión de las moléculas HLA clase I (inmunoselección). Aunque los mecanismos exactos por los cuales los tumores desarrollan inmunosubversión es objeto de intensa investigación, un ejemplo es que algunos tumores (carcinomas de próstata, colon y páncreas) producen indolamina 2,3-dioxigenasa (por degradación del triptófano), lo cual puede bloquear localmente la proliferación de los linfocitos T CD8+ e induce apoptosis de los linfocitos T CD4+. ^{54,55}

Las células tumorales expresan抗ígenos, los cuales pueden ser blanco de la respuesta inmunológica adaptativa. La identificación de抗ígenos asociados a los tumores, reconocidos por los linfocitos B y T en los diferentes modelos de carcinogénesis y progresión tumoral, ha permitido construir estrategias de inmunoterapia profiláctica y terapéutica dirigida a dichos blancos moleculares oncogénicos.

En los últimos años se ha demostrado que el tipo, la densidad y localización de la respuesta inmunológica en el tumor son algunos de los mejores marcadores para predecir la sobrevida en los pacientes con cáncer.⁵⁶ En dos estudios complementarios, Pages y colaboradores^{56,57} demostraron que el tiempo de recurrencia y prolongación de la supervivencia global en pacientes con cáncer de colon, está regido en una gran parte por el estado de la respuesta inmunológica adaptativa local (migración, activación y diferenciación de los linfocitos T).

El gran éxito en la prevención del carcinoma hepatocelular a través de la vacunación de amplia cobertura contra el virus de la hepatitis B en las poblaciones de alto riesgo para desarrollar cáncer hepático, parece corresponder con los resultados iniciales en los estudios clínicos fase III para prevenir el cáncer cervicouterino empleando la vacunación contra los VPH oncogénicos más frecuentes.⁵⁸ Los ensayos clínicos de inmunoterapia adaptativa en los pacientes en los diferentes modelos de cáncer solo han obtenido éxitos limitados.⁵⁹

Terapia blanco molecular en la plataforma de las células madre tumorales

Todas las células madre de los tumores tienen el mismo fenotipo, o muy parecido al de su contraparte de los tejidos que derivan. Así la células madre hematopoyéticas neoplásicas expresan CD34+CD38-Thy1-Lin-; las del tejido mamao tumor, CD44+CD24-low ESA+ Lin-; las tumorales del tejido del sistema nervioso central, CD133+; y las del tejido prostático tumor, CD44+ a2b1highCD133+. En un futuro, la identificación de las características específicas de las células madre cancerosas que las discriminan de las células madre normales será el principio fundamental para diseñar terapias específicas antitumorales.^{60,61}

Avances recientes obtenidos en el tratamiento de pacientes con cáncer empleando terapia blanco-molecular en pacientes con cáncer

La TMD en cáncer incluye, además, de las estrategias mencionadas, algunas modalidades de terapia génica y

otras. Eventualmente, los tratamientos deben ser individualizados basados en los blancos moleculares producidos por el tumor del paciente.

En una revisión reciente realizada la Sociedad Americana de Oncología Clínica de los avances clínicos en cáncer alcanzados en el año 2006,⁶² particularmente, en relación a terapia blanco molecular, fueron reportados algunos resultados exitosos en tumores que habitualmente responden mal al tratamiento convencional (cáncer renal, cáncer de mama-HER-2 positivo, leucemia mielocítica crónica resistente y CEACC). Utilizando diferentes estrategias de TMD empleadas, se demostraron comparativamente mejores resultados en pacientes con cáncer renal avanzado, empleando Temsirolimus, un inhibidor de la mTOR (proteína que regula el crecimiento celular y la angiogénesis; con sobrevida media de 11 vs. 7 meses) y con Sunitinib (sobrevida de 47 versus 25 semanas); en pacientes con cáncer mamario avanzado HER-2 positivo empleando la combinación de lapatinib con capacitabine (tiempo de progresión de 37 versus 20 semanas); en pacientes con leucemia mieloide crónica resistentes o no tolerantes a imatinib, el dasatinib produjo respuesta clínica de 92%; y en pacientes con CEACC localmente avanzado, en quienes les fue agregado cetuximab al tratamiento de radioterapia a dosis altas, se logró una sobrevida de casi el doble (49 versus 29.3 meses), estos últimos resultados condujeron a que la Food Drug Administration aprobara el uso de cetuximab en este tipo de pacientes.

Otros dos éxitos del empleo de terapia molecular dirigida en cáncer fueron resaltados por la Sociedad Americana de Oncología Clínica: el uso y aplicación de la primera vacuna para prevenir la infección por VPH oncogénicos, conocida como Gardasil (Merck & Co Inc, Whitehouse Station, NJ) y con ello el cáncer cervicouterino; y la prueba denominada modelo metagénico, que consiste en la determinación del perfil de expresión de algunos genes en pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas. La aplicación de esta prueba, permite predecir la recurrencia tumoral en el 75% de pacientes con cáncer pulmonar de células no pequeñas con etapa I-A, (tasa más precisa, comparada con la tasa clínica), y con ello decidir o no, el uso de quimioterapia adyuvante (Cuadro III).⁶²

Diseño de protocolos clínicos identificando blancos moleculares específicos en el tratamiento personalizado del paciente con cáncer que presenta recaída

La selección del paciente, de tipo de tumor, del momento patofisiológico de la enfermedad y del blancos moleculares expresados en esas condiciones, son decisivos para lograr el éxito clínico al utilizar un fármaco molecular dirigido.⁶³ La verificación situacional dominante del blanco molecular en el mantenimiento del fenotipo tumoral, es crucial para retroalimentar los resultados del intervencionismo con la terapia

Cuadro III. Agentes aprobados en el año 2006* por la FDA contra blancos moleculares en el tratamiento del cáncer

| Agente nuevo (N), o conocido previamente con extensión en su indicación (E) | Nombre genérico | Indicación (es) | Nombre comercial |
|---|--|--|------------------|
| N | Sorafenib | Cáncer renal avanzado | Nexavar |
| N | Lenalidomide | Síndromes mielodisplásicos | Revlimid |
| N | Sunitinib | TEGI y cáncer renal avanzado | Sutent |
| N | Decitabine | Síndromes mielodisplásicos | Dacogen |
| N | Vacuna cuadrivalente vs. VPH | Mujeres entre 9 a 26 años | Gardasil |
| N | Dasatinib | Leucemia mieloide crónica con resistencia o intolerancia al imatinib | Sprycel |
| N | Panitumumab | Cáncer colorectal metastático-EGFR positivo | Vectibix |
| N | Vorinostat | Linfoma cutáneo de células T recurrente | Zolinza |
| E | Erlotinib (en combinación con gemcitabina) | Cáncer de páncreas avanzado | Tarceva |
| E | Rituximab (en combinación con quimioterapia) | Linfoma no Hodgkin difuso de células B | Rituxan |
| E | Cetuximab (en combinación con radioterapia) | Cáncer de cabeza y cuello avanzado | Erbitux |
| E | Thalidomide | Mieloma múltiple | Thalomid |
| E | Bevacizumab (combinado con quimioterapia) | Cáncer colorectal avanzado (segundalínea) | Avastin |
| E | Lenalidomide (en combinación con dexametasona) | Mieloma múltiple | Revlimid |
| E | Bevacizumab (combinado con quimioterapia) | Cáncer de pulmón- NCP avanzado | Avastin |

*Durante este periodo, la Sociedad Americana de Oncología Clínica (ASCO) aprobó la expansión de indicación terapéutica de 4 agentes quimioterapéuticos.

blanco-molecular. Para obtener los mejores resultados es necesario no tan solo identificar las proteínas del gen o los genes adictos al cáncer como blancos moleculares, sino que es también necesario evaluar su actividad bioquímica *in situ*, para con ello correlacionar la respuesta al interventionismo dirigido en el contexto molecular.

Por la heterogeneidad de las clonas tumorales dentro un cáncer, y por la mayor inestabilidad génica que conduce el escapar de un primer o subsecuente interventionismo dirigido al oncogene crítico del fenotipo tumoral, se ha considerado combinar diferentes estrategias terapéuticas para mejorar las posibilidades de éxito.¹³

Las actuales terapias contra el cáncer han sido desarrolladas para disminuir la masa tumoral (dirigidas a las células tumorales diferenciadas). Globalmente si la TMD provocara respuestas clínicas a corto plazo, esto podría asociarse a recaídas a mediano plazo, debido a que seguramente las células madre tumorales no fueron eliminadas. Por el contrario, si el objetivo del tratamiento es eliminar las células madre tumorales, la respuesta clínica no sería detectable a corto plazo. Por ello, el desarrollo de terapias dirigidas contra las células madre tumorales tiene otros criterios de respuesta en los tumores.⁶⁰

Conocer la biología integral de cada uno de los modelos específicos de los cánceres permite escoger racionalmente la mejor estrategia de terapia dirigida y alcanzar éxitos aún no logrados. La biología integral de los diferentes cánceres es solo parcialmente conocida en la actualidad. Los modelos de cáncer en los cuales su conocimiento integral sea mayor, tendrán una mejor oportunidad de interventionismo dirigido en el contexto molecular. Actualmente innumerables grupos trabajan en esta área, como el de Sjöblom y colaboradores,⁶⁴ quienes realizaron un análisis sistemático de 13 023 genes codificantes en pacientes con cánceres de mama y colorrectal para conocer su biología, encontrando que estos tumores acumulan 90 genes mutantes en promedio, pero solo 15 repetitivamente comunes. La mayoría de las mutaciones correspondieron a la sustitución de una base (en el par C:G), y entre los genes identificados, varios no habían sido reconocidos asociados a dichos cánceres. El espectro mutacional (genes candidatos de la transformación maligna) fueron diferentes entre los cánceres de mama y colorrectal, y frecuentemente se presentó variedad en la heterogeneidad de genes mutados de acuerdo con el tipo de tumor (incluso de diferentes áreas de los especímenes derivados del mismo tipo histopatológico).

En otro estudio reciente, Gray-Schopfer y colaboradores⁶⁵ analizaron la biología de la iniciación y progresión del melanoma con la intención de dirigir nuevas direcciones en su interventionismo terapéutico. Por medio de hibridación genómica comparativa y análisis de mutaciones por secuenciación génica, identificaron algunas de las más importante vías intracelulares de señalización oncogénicas del melanoma. Identificaron a BRAF (uno de los tres genes Raf humanos) como el oncogene predominante (protagónico) alterado de la vía Ras/Raf/MEK/ERK (vía reguladora de la proliferación celular en el modelo de melanoma), observando que la mutación más frecuente de BRAF fue el cambio de una

valina por el ácido glutámico en la posición 600 (V600E). También detectaron otras alteraciones por las cuales el melanoma mantiene bajos niveles de apoptosis, entre ellas la alteración de la vía Ras/PI(3)K/Akt/PKB/mTOR, así como niveles bajos de MITF (regulador positivo de la diferenciación del melanocito) e inactivación de la vía p16^{INK4a}/Rb (genes supresores); esta última vía asociada a la progresión del melanoma. Esto podría explicar la resistencia del melanoma a agentes quimioterapéuticos y a los efectos de citotoxicidad por immunoterapia. A partir de este cuerpo de conocimientos se han diseñado nuevos protocolos clínicos de terapia molecular en pacientes con progresión del melanoma, dirigidos contra una o múltiples vías intracelulares alteradas.^{66,67}

Futuras direcciones

En la actualidad no hay métodos que valoren totalmente los circuitos que controlan la proliferación celular, diferenciación y apoptosis en células normales o cancerosas.

La identificación progresiva de éstas más los avances en la teoría de redes, de sistemas biológicos y modelos bioinformáticos, podrán hacerlo posible.

Las nuevas terapias blanco-moleculares en los diversos tipos de cánceres necesitan determinar cuál y cuantitativamente las interacciones dinámicas entre las células cancerosas, las moléculas blanco y sus agentes terapéuticos. Una comprensión cuantitativa de la biología del cáncer, requiere el desarrollo de una estructura matemática capaz de describir los principios fundamentales que gobiernan la iniciación, la progresión tumoral y la respuesta a la terapia. El Instituto del Cáncer en Estados Unidos de Norteamérica ha iniciado recientemente el proyecto *The Cancer Genome Atlas*, en cuya primera fase del proyecto se identificarán las alteraciones genómicas de los cánceres del pulmón, del ovario y del cerebro (glioblastoma).

La meta radica en disponer de un perfil genómico completo de cada uno de los modelos de cánceres, de cada uno los cánceres recurrentes o resistentes al tratamiento en los pacientes, y acto seguido, la selección del tratamiento pasaría a ser un proceso de ejecución racional. Así los pacientes con tumores que desarrolle una segunda o tercera mutación en su oncogen predominante, a partir de su caracterización molecular, recibirían un tratamiento específico y eficaz mediante agentes que actuarán sobre esa alteración específica. Antes de alcanzar este objetivo, queda mucho trabajo por delante.

Mientras no conozcamos el perfil genético y proteómico completo de cada uno de tumores malignos, los diferentes ensayos clínicos terapéuticos mantendrán un grado variable de empirismo.

En un futuro próximo, la atención personalizada del paciente con cáncer se ejercitará en un ciclo continuo; el ciclo empezaría en el registro o descubrimiento de las alteraciones moleculares específicas del tumor (relacionada con el estado clínico específico del paciente), seguiría con la aplicación de un ensayo clínico terapéutico de TMD (se escogerá

la o las mejores estrategias de tratamiento) y se evaluará el resultado. La información de los resultados se registrará en una base de datos con acceso público, y esta última servirá de antecedente inmediato para reiniciar una etapa "mejorada", con la nueva determinación de las alteraciones moleculares que presente el tumor, para continuar con las correspondientes etapas del ciclo.⁶⁸

Referencias

1. Druker BJ. Presente y futuro del tratamiento de blancos moleculares. En: Abeloff MD, Armitage JO, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG, editores. Oncología clínica. 3^a edición. Madrid: Elsevier Churchill Livingstone.; 2004, pp. 269-286.
2. Christofori G. Division of labour. *Nature* 2007;446:735-736.
3. Dahigren L, Mellin H, Wangsa D, Heselmeyer-Haddad K, Bjornestal L, Lindholm J, et al. Comparative genomic hybridization analysis of tonsillar cancer reveals a different pattern of genomic imbalances in human papillomavirus-positive and -negative tumors. *Int J Cancer* 2003;107:244-249.
4. Smeets SJ, Braakhuis BJM, Abbas S, Snijders PJF, Ylstra B, van de Wiel MA, et al. Genome-wide DNA copy number alterations in head and neck squamous cell carcinomas with or without oncogen-expressing human papillomavirus. *Oncogenomics* 2006;25:2558-2564.
5. Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, Bos PD, Kim JY, Nadal C, et al. Mediators of vascular remodeling co-opted for sequential steps in lung metastasis. *Nature* 2007;446:765-770.
6. Arizita EV, Lee CJ, Gogoi R, Fishman DA. The tumor microenvironment: key to early detection. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2006; 43:393-425.
7. Jordán CT, Guzmán ML, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med* 2006;355:1253-1261.
8. Dean M, Fojo T, Bates S. Tumor stem cells and drug resistance. *Nature Rev Cancer* 2005;5:275-284.
9. Nishizuka S. Profiling cancer stem cells using protein array technology. *Eur J Cancer* 2006;42:1272-1282.
10. Galmozz E, Facchetti F, La Porta CA. Cancer stem cells and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem* 2006;13:603-607.
11. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nature Rev Immunol* 2006;6:715-727.
12. Zalatnai A. Molecular aspects of stromal-parenchymal interactions in malignant neoplasms. *Curr Mol Med* 2006; 6:685-693.
13. Weinstein I B, Joe AK. Mechanisms of disease: oncogen addiction-a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nature Clin Prac Oncol* 2006;3:448-457.
14. Cancer Genome Project. Cancer gene census. Disponible en <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census>
15. Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, et al. A census of human cancer genes. *Nature Rev Cancer* 2004;4:177-183.
16. Krause SD, Van Etten AR. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med* 2005; 352:172-187.
17. Arslan MA, Kutuk O, Basaga H. Protein kinases as drug targets in cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2006; 6:623-634.
18. Baselga J. Targeting tyrosine kinases in cancer: the second wave. *Science* 2006;312:1175-1178.
19. Schmahl J, Raymond CS, Soriano P. PDGF signaling specificity is mediated through multiple immediate early genes. *Nature Genetics* 2007;39:52-60.
20. Shastray BS. SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet* 2002;47:561-566.
21. Jimenez-Sánchez G. Developing a platform for genomic medicine in Mexico. *Science* 2003;300:295-296.
22. Liu W, Chang B, Sauvageot J, Dimitrov L, Gielzak M, Li T, et al. Comprehensive assessment of DNA copy alterations in human prostate cancers using Affymetrix 100K SNP mapping array. *Genes Chromosomes Cancer* 2006;45:1018-1032.
23. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, Miller CB, Coustan-Smith E, Dalton J, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007;446:758-764.
24. Shastray BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Pharmacogenomics* 2006;6:16-21.
25. Etienne MC, Formento JL, Chazal M, Francoual M, Magne N, Formento P, et al. Methylentetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and response to fluorouracil-based treatment in advanced colorectal cancer patients. *Pharmacogenetics* 2004;14:785-792.
26. Ball CA, Brazma A, Causton H, Chervitz S, Edgar R, Hingamp P, et al. Submission of microarray data to public repositories. *PLoS Biol* 2004;2:E317.
27. Quackenbush J. Microarray analysis and tumor classification. *N Eng J Med* 2006;354:2463-2472.
28. van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AAM, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415:530-536.
29. Hannash S. Disease proteomics. *Nature* 2003;422:226-232.
30. Gaither A, Iorgenson V. RNA interference technologies and their use in cancer research. *Curr Opin Oncol* 2007;19:50-54.
31. Weinert LM, Borghaei H. Targeted therapies in solid tumors: monoclonal antibodies and small molecules. *Hum antibodies* 2006;15:103-111.
32. de Jonge MJA, Verweij J. Multiple targeted tyrosine kinase inhibition in the clinic: All for one or one for all. *Eur J Cancer* 2006;42:1351-1356.
33. Diehl F, Diaz Jr LA. Digital quantification of mutant DNA in cancer patients. *Curr Opin Oncol* 2007;19:36-42.
34. Bild AH, Potti A, Nevins JR. Linking oncogenic pathways with therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2006;6:735-741.
35. Potti A, Dressman HK, Bild A, Riedel RF, Chan G, Sayer R et al. Genomic signatures to guide the use of chemotherapeutics. *Nature Medicine* 2006;12:1294-1300.
36. Potti A, Mukherjee S, Petersen R, Dressman HK, Bild A, Koontz J et al. A genomic strategy to refine prognosis in early-stage non-small-cell lung cancer. *N Engl Med* 2006;355:570-580.
37. Zhang JT. Use of arrays to investigate the contribution of ATP-binding cassette transporters to drug resistance in cancer chemotherapy and prediction of chemosensitivity. *Cell Res* 2007;17:311-323.
38. Bild A, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, et al. Oncogenic pathway signatures in human cancers as a guide to targeted therapies. *Nature* 2006;439:353-357.
39. Downward J. Signatures guide drug choice. *Nature* 2006;439:274-275.
40. Abbott LH, Michor F. Mathematical models of targeted cancer therapy. *BJC* 2006;95:1136-1141.
41. Pinkel D, Albertson DG. Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer. *Nat Genet* 2005;37:S11-S17.
42. Lockwood WW, Coe BP, Williams AC, MacAulay C, Lam WL. Whole genome tiling path array CGH analysis of segmental copy number alteration in cervical cancer cell lines. *Int J Cancer* 2006;120:436-443.
43. Dutt A, Beroukhim R. Single nucleotide polymorphism array analysis and cancer. *Curr Opin Oncol* 2007;19:43-49.
44. Matsuzaki H, Dong S, Loi H, Di X, Liu G, Hubbell G, et al. Genotyping over 100,000 SNPs on a pair of oligonucleotide arrays. *Nature Methods* 2004;1:109-111.
45. Dove A. The SNPs are down: genotyping for the rest of us. *Nature Methods* 2005;2:989-993.
46. Quackenbush J. Computational analysis of microarray data. *Nature Rev Genet* 2001;2:418-427.
47. Michiels S, Koscielny S, Hill C. Interpretation of microarray data in cancer. *B J Cancer* 2007;96:1155-1158.
48. Warmuth M, Kim S, Gu X, Xia G, Adrian F. Ba/F3 cells and their use in kinase drug discovery. *Curr Opin Oncol* 2007;19:55-60.
49. Hwang S-I, Thumar J, Lundgren DH, Rezaul K, Mayya V, Wu L, et al. Direct cancer tissue proteomics: a method to identify candidate cancer biomarkers from formalin-fixed paraffin-embedded archival tissues. *Oncogen* 2007;26:65-76.
50. Gollub JA, Bonomi P. Historic evidence and future directions in clinical trial therapy of solid tumors. *Oncology (Williston Park)* 2006;20(6suppl5):10-18.
51. Ma BBY, Britten CD, Siu LL. Clinical trial designs for targeted agents. *Hematol Oncol Clin Am* 2002;16:1287-1305.
52. Weissleder R. Molecular imaging in cancer. *Science* 2006;312:1168-1171.
53. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
54. Uttenhoffe C, Pilote L, Theate I, Stroobant T, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanisms based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nature Med* 2003;9:1269-1274.
55. Terness P, Bauer TM, Rose L, Dufter C, Watzlik A, Simon H, et al. Inhibition of allogenic T cell proliferation by indoleamine 2,3-dioxygenase expressing dendritic cells: mediation of suppression by tryptophan metabolites. *J Exp Med* 2002;196:447-457.
56. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pages C, et al. Type, density, and location of immune cells with human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006;313:1960-1964.
57. Pages F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molldor R, et al. Effector memory T cells, early metastasis and survival in colorectal cancer. *N Eng J Med* 2005;353:2654-2666.
58. Koutsky LA, Harper DM. Current findings from prophylactic HPV vaccine trials. *Vaccine* 2006;24S3:S114-S121.
59. Gattinoni L, Powell DJ Jr, Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat Rev Immunol* 2006;6:383-393.
60. Huff CA, Matsui WH, Smith BD, Jones RJ. Strategies to eliminate cancer stem cells: clinical implications. *Eur J Cancer* 2006;42:1293-1297.
61. Al Hajj M. Cancer stem cells and oncology therapeutics. *Curr Opin Oncol* 2007;19:61-64.
62. Ozols RF, Herbst RS, Colson YL, Gralow J, Bonner J, Curran Jr WJ, et al. Clinical Cancer Advances 2006: Major research advances in cancer treatment,

- prevention and screening- A report from the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2007;25:146-162.
- 63. **Valdespino V, Tsagiris P, Pisa P.** Current perspectives in the treatment of advanced prostate cancer. *Med Oncol* 2007. (In press).
 - 64. **Sjoblom T, Jones S, Wood L, Parsons DW, Lin J, Barber TD, et al.** The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 2006;314:268-274.
 - 65. **Gray-Schopfer V, Wellbrock C, Marais R.** Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature* 2007;445:851-857.
 - 66. **Queirolo P, Acquati M.** Targeted therapies in melanoma. *Cancer Treat Rev* 2006;32:524-531.
 - 67. **Solit DB, Garraway LA, Pratilas CA, Sawai A, Getz G, Basso A, et al.** BRAF mutation predicts sensitivity of MEK inhibition. *Nature* 2006;439:358-362.
 - 68. **Dalton WS, Friend SH.** Cancer biomarkers-an invitation to the table. *Science* 2006;312:1165-1168.