



Nuevas dianas terapéuticas en la lucha contra el cáncer

Valter R.M. Lombardi* y Ramón Cacabelos**

*Departamento de Biotecnología de la Salud, Euroespes Biotecnología, Bergondo, A Coruña

**Instituto para Enfermedades del Sistema Nervioso Central y Medicina Genómica, Centro de Investigación Biomédica Euroespes, Bergondo, A Coruña

Los principales avances en el tratamiento del cáncer se han logrado con la implantación de la quimioterapia, tal y como la conocemos hoy. Esta estrategia terapéutica se inició con el descubrimiento de la actividad antitumoral de los agentes alquilantes y de ciertas hormonas, y la aparición de antimetabolitos del ADN. Muchos compuestos con actividad antitumoral están presentes en la naturaleza, y muchos de sus derivados son producidos por microorganismos. Sin embargo, debido a la toxicidad de los fármacos

y a la resistencia a múltiples agentes quimioterapéuticos, la búsqueda de nuevos fármacos y/o compuestos naturales todavía representa un objetivo principal de la terapia del cáncer. El crecimiento incontrolado de las células tumorales puede ser debido en parte a la capacidad de las células transformadas para producir una variedad de factores de crecimiento polipeptídico que están implicados en la autoestimulación del crecimiento de estas células. Las células tumorales humanas producen y secretan factores ➤



Muchos compuestos con actividad antitumoral están presentes en la naturaleza, y muchos de sus derivados son producidos por microorganismos

células tumorales, basados en el ciclo celular, la diferenciación celular, la distribución de tejidos y órganos, así como sobre la influencia de una variedad de factores reguladores del crecimiento que pueden participar activamente en una cascada de señales intracelulares y eventos que permiten a las células tumorales escapar de la regulación normal del crecimiento mediante la síntesis de factores de crecimiento que, a su vez, estimulan la auto-activación a través de un mecanismo “autocrino”.

Figura 1. Anticuerpos monoclonales conjugados a Taxanos. La quimioterapia del cáncer actual se basa en la premisa de que las células tumorales que proliferan rápidamente son más propensas a morir con fármacos citotóxicos. Desafortunadamente, la diferencia en la actividad de los fármacos actuales contra los tejidos tumorales en comparación con los tejidos sanos es relativamente pequeña. La cantidad de un fármaco necesaria para lograr el nivel clínicamente eficaz de muerte celular a menudo causa daño grave a las células no malignas en proliferación, tales como las células del tracto gastrointestinal y de la médula ósea, resultando en una variedad de efectos secundarios indeseables. Por lo tanto, es muy importante desarrollar nuevos agentes quimioterapéuticos con especificidad tumoral mejorada.



La terapia del cáncer: ¿dónde estamos?

Los principales avances en el tratamiento del cáncer se consiguieron con la quimioterapia, tal y como la conocemos hoy. En la década de 1970 y más tarde, los estudios clínicos con quimioterapia combinada produjeron importantes resultados que llevaron a la demostración de que la remisión completa de ciertos tumores podría ser inducida con fármacos contra el cáncer^{1,2,3}. Al mismo tiempo, los nuevos agentes, tales como los antibióticos de antraciclina⁴, los alcaloides de la Vinca⁵, los complejos de platino^{6,7,8,9} y los antagonistas de hormonas^{10,11}, proporcionaron poderosas herramientas adicionales. Los resultados obtenidos en la quimioterapia contra el cáncer también se deben en gran medida a los avances en los procedimientos de diagnóstico, al uso de tratamientos combinados y, al desarrollo de mejores criterios para el diseño del régimen y la evaluación de resultados. Como consecuencia de estos avances, ahora es posible conseguir una regresión completa del tumor en pacientes con diferentes tipos de cáncer y obtener una supervivencia sin enfermedad durante un periodo de 5 o más años en un porcentaje significativo de casos.

Apesar de estos avances, dificultades importantes quedan por superar hasta que los tratamientos terapéuticos del cáncer puedan ser generalmente exitosos en la curación definitiva de este gran complejo deterioro que representa la segunda causa de mortalidad en los países desarrollados, después de las enfermedades cardiovasculares. En concreto, este es el caso de los comúnmente llamados “tumores sólidos”. Estas dificultades se pueden atribuir en su mayor parte a la falta de agentes que actúen de forma única y específicamente en tumores, o al menos tener una selectividad de acción antitumoral suficientemente marcada, y al fenómeno de la resistencia.

La combinación de estos dos factores limitantes son las razones principales del fracaso final; de hecho, incluso un nivel muy bajo de resistencia celular puede ser suficiente para dar lugar a la resistencia clínica porque no se puede superar mediante el aumento de la intensidad de dosis de drogas adecuadamente sin incurrir en toxicidad no aceptable. Durante las dos últimas décadas, nuevas perspectivas se han ido expandiendo en la lucha contra el cáncer con progresos en la comprensión de la biología molecular de la célula cancerosa, y de las interacciones entre el tumor y los mecanismos de regulación del huésped^{12,13}, responsables de las diferentes formas de resistencia. Aunque queda mucho por aprender en cada una de estas áreas, que sin duda tendrán un impacto en el tratamiento del cáncer, ya es posible identificar nuevas direcciones en la terapéutica del cáncer^{14,15,16,17,18,19,20} y utilizar con éxito los conocimientos adquiridos hasta el momento.

Nuevos enfoques en la terapéutica del cáncer

Los enfoques que se están realizando en la actualidad son esencialmente los siguientes (*Tabla 1*):

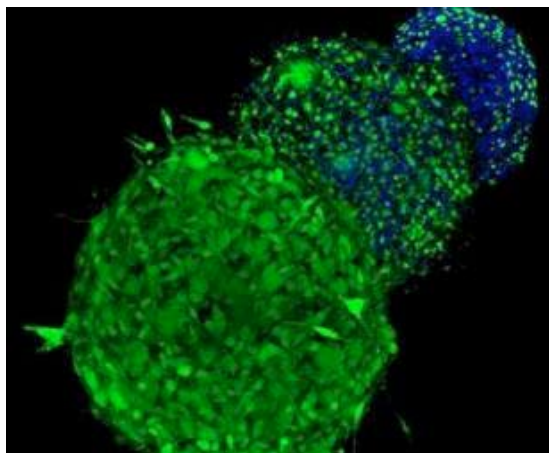
1) el desarrollo de agentes antitumorales altamente específicos o selectivos que afectan a dianas celulares (*Figura 1*); 2) el aumento de la eficacia antitumoral de los fármacos disponibles a través del diseño de mejores tratamientos, incluyendo tratamientos combinados basados en el conocimiento de los mecanismos de acción de los fármacos antitumorales y su toxicidad; 3) la modificación o la prevención de la resistencia a los medicamentos individuales o múltiples, ya sea natural o adquirida, a través de la alteración de la expresión del gen en cuestión y/o la modificación de los mecanismos bioquímicos implicados; 4) la inducción de alteraciones terapéuticamente rentables de las respuestas biológicas a los tumores mediante la administración de efectores solubles o celulares, o su bloqueo y/o modulación; 5) el desarrollo de modalidades de tratamiento combinado (*Figura 2*) con el objetivo de maximizar la acción antitumoral y tomar ventaja de las limitaciones ocasionadas por la toxicidad de los tratamientos combinados, y 6) el desarrollo de tratamientos adaptados a los pacientes individuales en base a una mejor evaluación de la capacidad de respuesta potencial del tumor y de las limitaciones relativas a la heterogeneidad de las poblaciones de células tumorales (*Figura 3*).

Un importante salto hacia adelante en el desarrollo de terapias curativas del cáncer, sin duda, se realizará a través del desarrollo de agentes que actúen únicamente sobre las células neoplásicas. Gracias a los avances logrados hasta la fecha con la aparición de agentes con una acción muy selectiva sobre las células neoplásicas, los esfuerzos hacia el desarrollo de agentes contra el cáncer parecen estar a punto de convertirse en una realidad terapéutica.

Basándonos en los avances principales que se realizan en la comprensión de la biología molecular de la célula neoplásica²⁸, nuevas oportunidades de éxito en esta dirección estarán disponibles en un futuro no muy lejano. La identificación de la base genética y molecular del control del crecimiento proporcionará nuevos medios para caracterizar las células neoplásicas.

El descubrimiento de oncogenes activados y/o mutados con posibles funciones únicas en la etiología y quizás en el mantenimiento de la neoplasia²⁹, el aumento de la comprensión de los mecanismos de control de la expresión génica, incluyendo la activación de genes, la amplificación y

Figura 2. Cultivo celular tridimensional de tumor de melanoma de células resistentes a los inhibidores de BRAF. La diferencia entre las células vivas no tratadas (verde) y las células muertas (azul) indica el éxito de una combinación de inhibidores de MEK y PI3Ki en el control del crecimiento de las células resistentes.



la supresión de otros productos de genes³⁰, tales como los resultados de Vogelstein, que asocian la inestabilidad genética y la pérdida de genes p53 con el pronóstico en cáncer de colon³¹, o las de Slamon, que asocian la amplificación del gen HER-2 con un mal pronóstico para el cáncer de mama³², representan sólo algunos de los avances que proporcionan una base novedosa para el desarrollo de agentes con actividad anticancerosa específica y también para el diseño de tratamientos agresivos realizados según las características genéticas propias de cada paciente. En efecto, la posibilidad de caracterizar los cánceres individuales en precisos términos genéticos, por ejemplo a través de metodologías desarrolladas a mediados de los años 1980, como la tecnología de reacción en cadena, debe facilitar la predicción de la respuesta del tumor individual a diferentes tratamientos. También parece razonable esperar que los agentes anticancerosos específicos que puedan ser desarrollados en el futuro, sean capaces de alterar la función del gen diana seleccionado para la intervención. La interferencia genética también podría llevarse a cabo en el nivel post-transcripcional, por ejemplo, a través de enfoques antisentido. Esta estrategia que afecta a la expresión de genes que codifican estructuras tales como los receptores del factor de crecimiento, puede visualizarse como uno de los numerosos enfoques que podrían ponerse en práctica. Obviamente, un diseño preciso de agentes que interfieren con la función de los genes específicos que tienen un papel único en la neoplasia y/o tal vez en la resistencia debe fundarse en la comprensión de los mecanismos moleculares que se espera que proporcionen informaciones inequívocas de los sitios de la deseada

Tabla 1. Estrategias en la terapéutica del cáncer^{21,22,23,24,25,26,27}

Desarrollar agentes que puedan afectar a los sitios de intervención recientemente descubiertos Aumentar la eficacia antitumoral con los fármacos disponibles • Aumentar la intensidad de la dosis y proteger de la toxicidad • Aumento de la actividad antitumoral Modificar y/o prevenir la resistencia • Afectar la expresión génica y/o de los mecanismos responsables Alterar la respuesta biológica al tumor • Utilización/bloqueo de efectores solubles y celulares • Utilización de agentes moduladores sintéticos y/o naturales Estrategias antitumorales de terapia génica • Gen supresor de tumor (p53) • Inhibición de oncogenes con oligonucleótidos antisentido • Ribozimas e inhibidoras cortos de ARN • Modulación de las reservas de citoquinas • Genes suicidas como la timidina quinasa viral y ganciclovir • Genes de apoptosis Utilización clínica de interferencia (RNAi) • Optimización de las propiedades fisicoquímicas de escapar de las interacciones inmunes y estroma • Desafíos: barreras biológicas, toxicidades de RNAi, especificidad tisular, estudio de administración. Desarrollo de virus oncolíticos • Lisis celular directa debida a la replicación viral • Citotoxicidad directa de la proteína viral Sensibilización a la quimioterapia y la radioterapia • Expresión transgénica • Inducción de inmunidad antitumoral - No específica (por ejemplo, TNF) - Específica (por ejemplo, la respuesta de CTL) Combinar tratamientos sinérgicos en los tumores, con diferentes toxicidades Adaptar los tratamientos basados en la capacidad de respuesta individual y heterogeneidad del tumor

intervención única y específica.

Cada vez es más posible diseñar nuevas estrategias dirigidas a aumentar la eficacia antitumoral de acceso a los medicamentos contra el cáncer. Como resultado de la experiencia adquirida durante los últimos 40 años, se ha hecho evidente

“

...tratamientos dirigidos al cáncer de los pacientes individuales...

que la intensidad de dosis es un elemento importante que influye en el potencial curativo de los medicamentos citotóxicos contra el cáncer³³. Las principales limitaciones encontradas en la maximización de la intensidad de dosis se han

relacionado con la toxicidad de la dosis de los agentes a nuestra disposición. Con el descubrimiento de citoquinas capaces de estimular la maduración de las células madre de médula ósea ha sido posible aumentar la intensidad de la dosis de medicamentos contra el cáncer con reducción de la toxicidad en la médula ósea a través de adecuados tratamientos combinados con determinadas citoquinas^{34,35,36}. Descubrir que la cardiotoxicidad ocasionada por la adriamicina puede reducirse considerablemente o, de hecho, puede ser evitada, a través de la administración del fármaco encapsulado en liposomas³⁷, sin pérdida de actividad antitumoral, ha conducido al desarrollo clínico actual de esta formulación³⁸, proporcionando una diferente estrategia y, al mismo tiempo, la posibilidad de aumentar la intensidad de dosis de un fármaco como consecuencia de la reducción selectiva de la toxicidad en un determinado órgano.

Otro enfoque para aumentar la eficacia antitumoral de los fármacos disponibles se ejemplifica mediante la aplicación del concepto de modulación metabólica en el diseño de combinaciones de 5-fluorouracilo (5-FU) con leucovorina^{39,40,41}.

Estos regímenes se basan en la observación de que en ciertas líneas celulares de cáncer, la administración de leucovorina conduce a aumentos de las reservas de folato, y que, a su vez, este aumento facilita la formación del complejo ternario entre folato reducido, timidilato sintetasa y 5-ácido fluorodeoxiuridílico, la formación de los cuales es un requisito previo para la acción antiproliferativa del 5-FU.

La validez de este enfoque ha sido repetidamente apoyada por los grandes aumentos en la incidencia de respuesta objetiva obtenida con la combinación en pacientes con cáncer colorrectal y en pacientes con cáncer de cabeza y cuello. Además del aumento de la eficacia de 5-FU más leucovorina contra los tumores diana, un cambio en el perfil de la toxicidad de la dosis se ha producido y puede también proporcionar nuevas posibilidades en el diseño de tratamientos combinados con otros fármacos.

Resistencia del tumor y regresión tumoral

En general se acepta que la aparición de resistencia a los fármacos individuales o múltiples es un obstáculo importante en la quimioterapia. A medida que más información se obtiene de los mecanismos de resistencia^{42,43,44,45}, se dispone de nuevas oportunidades para desarrollar tratamientos destinados a prevenir o superar la resistencia. La prevención puede conseguirse a través de una alteración de la función de genes específicos que codifican elementos determinantes de resistencia o mediante la prevención de la amplificación de los genes. La implementación real de este enfoque depende en cada caso de la identificación del gen diana y del conocimiento de los mecanismos de regulación de su función, que proporcionan sitios adecuados para la intervención. En el caso de la resistencia a múltiples fármacos (MDR), muchos genes han sido identificados y la función de su producto parcialmente dilucidado⁴⁶ y, de hecho, uno de los principales mecanismos de ciertos tipos de MDR depende de la función de la glucoproteína P170 (Pgp), una macromolécula transmembrana que es el producto del gen ABCB1⁴⁷ que funciona como una bomba ATP dependiente y es responsable de un aumento de permeabilidad de las drogas. Los mecanismos implicados en la resistencia a algún fármaco, como el metotrexato (MTX), también están siendo investigados. La información recientemente adquirida apunta a nuevos lugares de intervención a nivel genético y fenotípico que pueden ser explotadas^{48,49,50,51}.

En casos bien documentados, la regresión del tumor también se ha inducido mediante la administración de anticuerpos antitumorales específicos^{52,53,54,55,56,57}. La administración de agentes que inducen la modulación terapéuticamente ventajosa del sistema inmune es un componente intrínseco de este enfoque. Aunque en algunos casos los tratamientos antitumorales específicos no se pueden desarrollar únicamente frente a la función afectada (por ejemplo, antígeno asociado a tumor, receptor de citoquinas, etc), al ser estas compartidas por algunos tejidos normales, la selectividad de acción aparentemente es alcanzable. No obstante, también en este caso, estas funciones deben ser afectadas por los productos de un gen activado o mutado expresado únicamente en células cancerosas, y debería ser posible desarrollar tratamientos específicos de tumores a través de una modificación adecuada de la respuesta biológica.

Una acción antitumoral sinérgica en terapéutica puede conseguirse a través de la combinación de agentes que exhiben diferentes niveles de toxicidad. Este concepto ha sido la base de la quimioterapia combinada en donde se asume que los fármacos con diferentes toxicidades se pueden administrar en combinación con las do-

sis máximas toleradas. A medida que el campo de la terapéutica del cáncer ha crecido, se ha hecho evidente que la mejora de los resultados terapéuticos puede conseguirse a través de la combinación de las diferentes modalidades de tratamiento.

Mientras que la cirugía post-tratamiento farmacológico se ha estudiado durante mucho tiempo, este tipo de modalidad combinada también está siendo considerada para los tratamientos basados en la explotación de las respuestas biológicas. De hecho, estos tratamientos se cree que tienen posibilidades de éxito en la presencia de una carga tumoral relativamente pequeña, como se espera de una reducción quirúrgica. Es imperativo que se lleven a cabo estudios con un diseño combinado que utilice medicamentos con modificadores de respuesta biológica y con radioterapia. Por ejemplo, en sistemas de modelos tumorales experimentales se ha hecho evidente que la combinación de ciertas citoquinas, como el factor de necrosis tumoral o la interleuquina-2, con ciertos fármacos, tales como adriamicina, pueden producir sinergias importantes curativas^{58,59}. La utilidad potencial de la combinación de modificadores de respuesta biológica con agentes quimioterapéuticos en los regímenes adecuados es generalmente reconocida y merece atención inmediata.

La conveniencia de diseñar tratamientos dirigidos al cáncer de los pacientes individuales ha sido cada vez más evidente en los últimos años. En cuanto herramientas más refinadas estén disponibles para la caracterización del tumor, las heterogeneidades en la respuesta entre los pacientes con el mismo tipo histológico definido y la etapa del tumor podrán confrontarse con heterogeneidades en las características individuales de estos tumores. Estos pueden clasificarse genéticamente y/o bioquímicamente. Las oportunidades que ofrecen a este respecto los avances en la caracterización genética de los tumores se han mencionado anteriormente. La información sobre los mecanismos de acción

Figura 3. Respuesta in vitro a un determinado tratamiento antitumoral para definir la respuesta individual de cada paciente siguiendo las instrucciones de su propio código genético





Los receptores de baja regulación pueden servir como un mecanismo de atenuación

de los fármacos y de las interacciones del fármaco con las vías bioquímicas que caracterizan a la célula diana es esencial para el diseño de tratamientos “a la carta”. Un ejemplo útil es el resultado obtenido en los estudios de predic-

ción de la respuesta a arabinosilcitosina (AraC) en pacientes con leucemia mielocítica (LMA)⁶⁰. Basándose en los resultados de un gran número de investigaciones, se hizo evidente que los índices de respuesta potencial a AraC en las células leucémicas eran la formación de AraCTP y la duración de la retención de la reserva de AraCTP⁶¹. Se ha encontrado en diferentes estudios que los pacientes con LMA podían agruparse en grupos de alta y baja retención. Por encima de un nivel relativamente bajo de formación de AraCTP, la duración de la primera remisión completa estaba en correlación directa con la retención de AraCTP. Este es sólo un ejemplo de lo que indica la posibilidad de identificar los determinantes bioquímicos farmacológicos de acción de los fármacos que representan los índices predictivos o de respuesta. En el caso de AraC, la predicción basada en la retención de AraCTP era correcta para los pacientes recién

diagnosticados, pero no para los pacientes en recaída. Esto sugiere que un índice bioquímico de acción farmacológica puede ser válido solamente en condiciones particulares, y no sólo se restringe, como es de esperar, a un medicamento específico, sino también a una enfermedad específica, así como a una etapa específica de la progresión patogénica. Así, parece evidente que aún queda mucho por hacer. Hay que esperar que diferentes baterías de pruebas bioquímicas puedan desarrollarse para cada fármaco y para cada etapa de la enfermedad, y que puedan ser usadas en conjunción con los ensayos biológicos de la respuesta celular y en la formulación de predicciones de la respuesta en la que basar el diseño de tratamientos adaptados al paciente individual. La viabilidad de este enfoque se ha observado en el caso de AraC, como se acaba de mencionar.

Intrínseco a cada uno de los enfoques mencionados brevemente en estos comentarios es el problema básico de la heterogeneidad de las poblaciones de células tumorales⁶². Esta heterogeneidad puede observarse en las diferencias entre las características de las células del mismo tumor en el mismo paciente, diferencias que pueden reflejarse en la variabilidad de la respuesta a los diversos tratamientos.

Recientes experimentos realizados por nuestro grupo muestran que una línea celular humana de adenocarcinoma colorrectal (SW 480) obtenida de la “American Type Culture Collection” (ATCC) cultivada en diferentes condiciones presenta características diferentes de crecimiento (*Figura 4*). Las células SW 480 adherentes muestran una adhesión firme con muchas ramificaciones (*Figura 4A y 4D*); después de tripsinización, las células crecen en 3-4 días en medio libre de suero, como esferas flotantes de 100-200 micras de diámetro (*Figura 4B y 4E*). Las células SW 480 crecen como una monocapa adherente en suero libre de laminina mientras exhiben prolongaciones plasmáticas (*Figura 4C y 4F*). La tasa de proliferación varía entre las células, como se determina en el diagrama de la curva de crecimiento (*Figura 5*). Las células SW 480 adherentes, tanto en condiciones de medio completo y libre de suero, muestran una mayor tasa de proliferación que las células SW 480 esféricas, ya sea en un cultivo a corto plazo (un mes: A) o en un cultivo a largo plazo (tres meses: B) ($p < 0,05$).

De acuerdo con estos resultados, se puede pensar que las limitaciones físicas y geométricas de células que crecen en forma de esferas agregadas puede limitar la difusión de medios de cultivo, y el resultado es que pueden formarse gradientes de nutrientes, oxígeno, y factores de crecimiento dentro de las esferas, todos los cuales podrían actuar como factores determinantes en el proceso de la invasión tumoral.

Tabla 2. Familia de factores de crecimiento polipeptídicos y productos de los receptores

Familias de Ligandos de EGF: EGF, TGF- α , Amphiregulina, Betacellulina, EGF-L6, Epiregulina, HBEGF, LRIG1, Neuregulina-1/NRG1, VEGF.
Familias de Receptors de EGF: EGFR/HER1/ErbB1, HER2/ErbB2/CD340, HER3/ErbB3, HER4/ErbB4.

Familias de Ligandos de FGF: aFGF/FGF1, bFGF/FGF2, FGF5, FGF/KGF, FGF9, FGF10, FGF11, FGF12, FGF13, FGF14, FGF16, FGF18, FGF21.

Familias de Receptors de FGF: FGFR1/CD331, FGFR2/CD332, FGFR3/CD333, FGFR4/CD334, FGFR1/FGFR5

Familias de Ligandos de PDGF: PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, PDGF-D.
Familias de Receptors de PDGF: PDGFRA/CD140a, PDGFRB/CD140b.

Familias de Ligandos de IGF: IGF-1/IGF-I, IGF-2/IGF-II
Familias de Receptors de IGF: IGF1R/CD221, Receptor de Insulina /CD220

Familias de Ligandos de CSF: G-CSF/CSF3, GM-CSF/CSF2, M-CSF/CSF-1.
Familias de Receptors de CSF: G-CSFR/CD114, GM-CSFR/CD116, M-CSFR/CSF1R/CD115.

Familias de Ligandos de TGF-beta: TGF β -1, 2, &3.
Familias de Receptors de TGF: ALK-1/ACVRL1, ALK-7, Cripto/TDGF1, Endogлина/CD105, TGFBR1/ALK-5, TGFBR2, TGFBR3

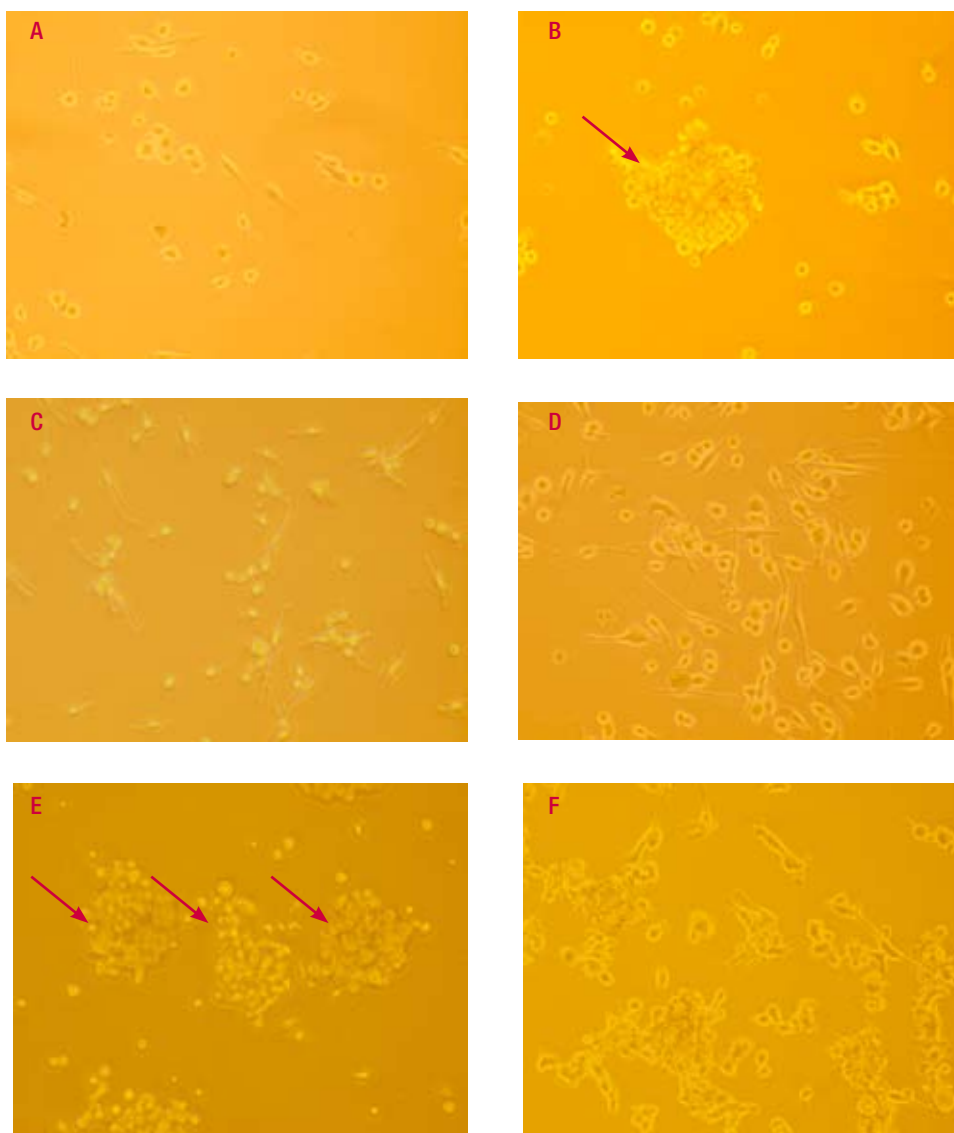
Otros factores de crecimiento: CCN4/WISP1, EG-VEGF/PK1, Erythropoietina/EPO, HGF, IL2/IL-2/Interleucina-2, Midkina, NOV/CCN3, PD-ECGF, SCF/C-kit ligando, Thrombopoietina/TPO, IL1F7/IL37/IL-1H4.

La existencia de células tumorales heterogéneas necesita ser reconocida y se debe tratar de identificar la consiguiente variabilidad de aquellos parámetros que pueden ser críticos para la respuesta terapéutica. Dicha identificación puede ser necesaria para diseñar la combinación óptima de los agentes que afectan a la mayoría de las células tumorales diana en un paciente dado. Este objetivo aún está lejos de ser alcanzado, pero los primeros pasos para llegar a ello ya se están dando en diferentes áreas de investigación.

Importancia pronóstica y clínica de los factores de crecimiento en el cáncer

El crecimiento debe ser a la vez ordenado y controlado para el desarrollo y mantenimiento del organismo normal. *In vitro*, las células normales, no transformadas presentan “inhibición por contacto”. Este término fue introducido en 1954 por Abercrombie y Heaysman después de observar que las células no transformadas crecen rápidamente en cultivo escaso, pero

Figura 4. Células de adenocarcinoma colorrectal SW 480 cultivadas bajo tres diferentes condiciones de crecimiento después de un mes (A, B y C) y tres meses (D, E y F). A y D muestran un crecimiento adherente en medio convencional (L-15 de Leibovitz) más un 10% de suero (SW 480 AdhCM). B y E muestran una forma esférica de crecimiento no adherente en medio de cultivo L-15 libre de suero (SW 480 SphSF), y C y F muestran crecimiento adherente en las placas recubiertas con laminina en medio libre de suero (SW 480 AdhSF). Las flechas en las figuras 4B y 4E muestran un aumento de crecimiento de las células en forma esférica.



la división celular se detiene después de que las células se hacen confluentes⁶³. Las células transformadas por virus o por agentes químicos no presentan “inhibición de contacto” de la división celular. La regulación dependiente de la densidad de crecimiento se cree que es debida a la prevención de las sustancias mitogénicas necesarias para la célula diana. Lipton et al.⁶⁴ demostraron que el agotamiento de los factores de crecimiento esenciales presentes en el medio es responsable de la interrupción del crecimiento cuando las células confluyen. Los factores de crecimiento polipeptídicos son proteínas reguladoras que controlan la proliferación y la diferenciación. En las últimas cuatro décadas, diferentes factores se han descrito y purificado^{65,66,67,68,69,70}. Estos factores son polipéptidos macromoleculares naturales que controlan el crecimiento *in vitro* (Figura 6).

Los receptores del factor de crecimiento

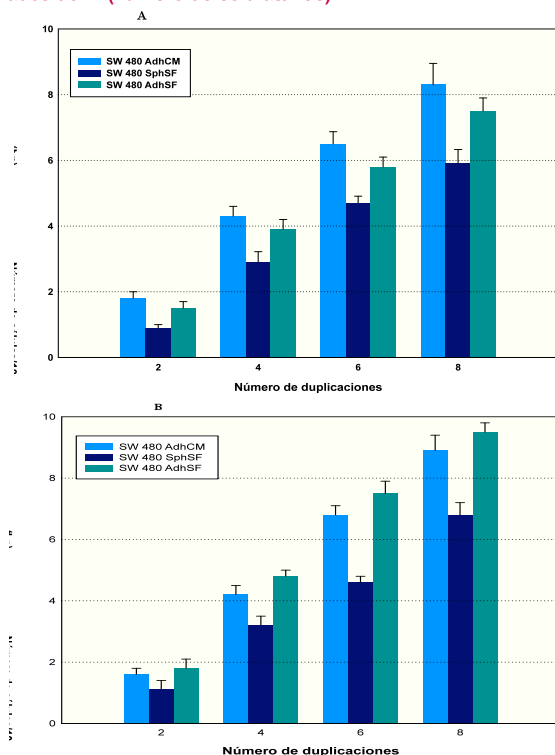
Las células tumorales sufren cambios en su fenotipo por los cuales adquieren las características anormales propias del cáncer: la pérdida de adhesividad, la capacidad de degradar el tejido circundante que permite a las células migrar, la inducción del crecimiento de nuevos vasos

sanguíneos y, finalmente, la adquisición de un potencial para formar nuevos tumores en sitios distantes y escapar a la destrucción por el sistema inmune. La causa del fallo de los tratamientos y de la muerte de los pacientes con cáncer es casi siempre la metástasis; y la capacidad de formar metástasis se basa en la adquisición de la capacidad invasiva por las células del tumor primario. La invasividad tumoral no es suficiente; para dar lugar a metástasis la célula necesita adquirir otras capacidades. El crecimiento tumoral requiere una vascularización o angiogénesis que consiste en la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes. En la progresión de la enfermedad intervienen muchos factores que actúan directamente favoreciendo este proceso (Figura 7). Sin la cercanía de los vasos sanguíneos, las células tumorales no sólo no pueden diseminarse, sino que mueren por deficiencia de nutrientes y oxígeno.

Los factores de crecimiento polipeptídicos se unen a receptores específicos de la superficie celular. Algunos de los receptores del factor de crecimiento que se han clonado y caracterizado se enumeran en la Tabla 2. La unión del ligando a su receptor específico inicia una miríada de eventos intracelulares tales como la hidrólisis de lípidos de inositol, el aumento en los niveles de calcio intracelular, el pH intracelular alterado, y finalmente la síntesis de ADN. Una característica común a todos los receptores mencionados es su capacidad para estimular la fosforilación de un residuo de tirosina en el propio receptor (autofosforilación), así como la fosforilación de residuos de tirosina en sustratos de proteínas exógenas^{71,72}. Esta actividad de tirosina quinasa es dependiente de la unión del ligando a su receptor específico. Además, esta actividad quinasa parece ser esencial para la inducción de la hidrólisis de fosfolípidos de membrana, inositol y otros factores de crecimiento a respuestas asociadas.

Factores de crecimiento peptídicos, tales como FEAG, se unen a sus receptores de membrana externa, que se agrupan e interiorizan. Ya se han identificado células que llevan un receptor de EGF mutante que no es objeto de “down-regulation”^{73,74}. Las células que portan el receptor de internalización-defectuoso diferían de las células que expresan receptores de tipo salvaje en su mayor sensibilidad a concentraciones bajas de ligando, aunque las constantes de disociación del receptor sean indistinguibles. La activación de la tirosina quinasa en la membrana plasmática es suficiente para la división celular. Así, los receptores de baja regulación pueden servir como un mecanismo de atenuación, sin que la transformación se produzca. En ausencia de este mecanismo de atenuación, bajas concentraciones de ligando darían lugar a la proliferación incontrolada es decir, la transformación neoplásica.

Figura 5. Curvas de crecimiento de las células de adenocarcinoma colorrectal SW 480 en las respectivas condiciones de cultivo después de un mes (A) y tres meses (B). El eje horizontal representa el número de pases celulares y el eje vertical representa los valores de $\ln$, que fueron derivados de $\ln$ (número de células/106)



Dianas moleculares en enfermedades gastrointestinales, oncogenes e inhibidores del crecimiento

Muchas dianas moleculares que incluyen factores de transcripción, receptores, quinasas, citoquinas inflamatorias y otras enzimas han sido relacionadas con los cánceres gastrointestinales (Tabla 3). La elucidación de los mecanismos biológicos y las vías específicas utilizadas por las células tumorales tiene un potencial prometedor tanto a nivel quimiopreventivo como terapéutico para diversos tipos de cánceres, incluyendo leucemia, linfoma y cánceres de la región gastrointestinal, sistema genitourinario, mama, ovario, cabeza y cuello, pulmón y piel⁷⁵.

Los oncogenes son genes que cuando se activan pueden producir cáncer. La existencia de oncogenes se dedujo de estudios de transfección de ADN y el análisis de retrovirus de transformación. Estos virus han adquirido sus oncogenes mediante la incorporación de ADN celular de las células normales en el genoma viral. Estos oncogenes normales homólogos se llaman “proto-oncogenes”. En las células normales, estos genes existen en su estado normal y regulan los procesos fisiológicos tales como la proliferación y la diferenciación celular^{76,77,78}.

En la célula maligna, el oncogen es no-regulado o estructuralmente anormal. Los oncogenes pueden codificar proteínas transmembrana, asociadas a la membrana, citoplasmáticas, nucleares o secretadas. Por ejemplo, el oncogén “myc” es un oncogén nuclear, lo que indica que su producto de proteína se localiza en el núcleo, como son los oncogenes “c-fos” y “c-jun”. Algunos oncogenes codifican factores de crecimiento (c-sis → PDGF cadena B). Otros oncogenes codifican proteínas que son homólogos a los receptores de la superficie celular (HER-2/neu).

Tabla 3. Dianas moleculares asociadas a enfermedades que afectan al sistema gastrointestinal.

Cáncer oral y cáncer de la glándula submandibular:

COX-2, CYP1A1, CYP1B1, HSP70, IGFBP-5, MAPK / ERK, MMP-2/9, NF-kB, p38, ROS, uPA.

Fibrosis hepática:

A-SMA, CD11b, COL1 α 1, COX-2, CTGF, MCP-1, MF-kB, PER-2, PPAR, procolágeno tipo I, TGF- β , TIMPs, TLR-2, TLR-4, TNF.

Tumor de hígado:

ADFP, APOA1, AP-1, DUSP1, FST, HIF-1, HSPB1, IGFBP1, CFG, MMP-9, NF-kB, STAT3, VEGF.

Enfermedades inflamatorias del intestino, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn:

Akt, CD14, COX-2, EpCAM, IL-1 β , IL-10, iNOS, IRF5, MAPK / ERK, MMP2, MyD88, NF-kB, NOD2, p38, PGE2, REG1A, STAT3, STAT4, TGF, TLR-2, TLR-4, TRPV-1, VCAM-1.

Tumor de esófago:

BCL2, GPX1, GSTT2B, MSH2, NF-kB, PGE2, RFC3, TGF, WRN.

Tumor gástrico:

AID, la caspasa-3, la ciclina D1, ciclina E, EZH2, IL-1ra, IL-11, MINT31, MSH2, MSH6, NF-kB, PAK1, P-gp, RON, RTKN, STAT3.

Tumor pancreático:

Akt, BIRC5, ATM/Chk1, CD44v6, CEACAM5, COX-2, CREM, CXCR1, CXCR2, EGFR, HO-1, IL-1 β , IL-13, KRT19, miR-21, miR-22, miR200, MLH1, MSH2, MSH6, MUC1, MUC16, NF-kB, Notch-1, PGE2, ROS, SP1, SP3, SP4, STAT3, survivina/BIRC5, WT1.

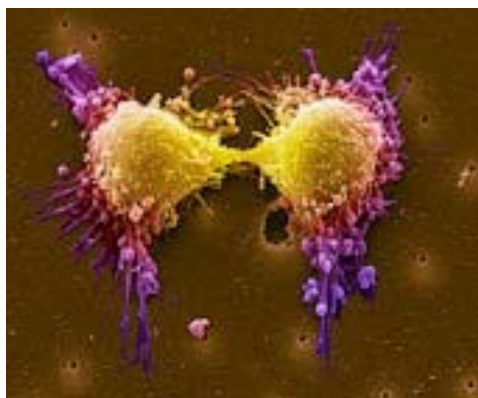
Tumor intestinal:

Akt / mTOR, Ca2 + / calmodulina, la COX-2, EGFR, ERCC1, FOXC2, HMGA1, IGF-1R, JNK, IL-8, MT1, NF-Hb, PGE2, TFAP2E, TYMS, Wnt / β -catenina.

Poliposis adenomatosa familiar:

APC, la COX-2, MLH1, MSH2, MSH6.

Figura 6. Los factores de crecimiento son otro importante grupo de mensajeros que inducen a las células a crecer y dividirse, o dejar de dividirse. Si hay demasiadas moléculas de factor de crecimiento, o si las células responden a ellos sin freno, las células pueden empezar a dividirse fuera de control, conduciendo al cáncer A: células en división normal. B: células en división sin control.



La importancia de los oncogenes en la patogénesis de tumores malignos humanos se ejemplifica mejor por la observación de que ciertos oncogenes se producen con una alta frecuencia en tumores malignos específicos. El “ras” está mutado en muchos cánceres de colon⁷⁹ y de páncreas⁸⁰. El “c-myc” está excesivamente activado en el linfoma de Burkitt, a veces como resultado de la reorganización de genes. “N-myc”, que comparte homología de secuencia con “c-myc”, se sobreexpresa en neuroblastomas. “L-myc”, otro oncogén homólogo, se sobreexpresa en el carcinoma de células pequeñas del pulmón⁸¹. Un oncogén particular puede contribuir a la progresión a través de una etapa particular que resulta en la expresión del fenotipo maligno completo.

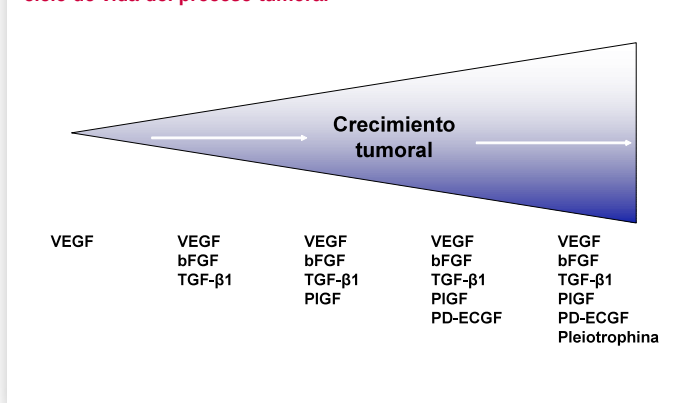
Un número de péptidos reguladores funcionan principalmente para inhibir el crecimiento ce-

lular y la división. Los interferones se unen a receptores de superficie celular e inhiben el crecimiento de células o previenen que las células quiescentes entren en el ciclo celular. El interferón puede bloquear el aumento de PDGF inducido en la expresión de productos génicos de c-myc y otros asociados con la entrada en el ciclo celular. Otra familia de péptidos inhibidores de crecimiento es el factor de crecimiento transformante β (TGF familia)⁸². En los mamíferos, hay al menos 3 genes TGF β que tienen un alto grado de homología. TGF β actúa uniéndose específicamente a receptores de alta afinidad de la superficie celular. TGF β es inhibidor de la mayoría de las células, incluyendo las de origen epitelial, hematopoyético, linfóide y endoteliales.

En conclusión, múltiples enfoques están ahora disponibles para el desarrollo de nuevos trata-

mientos contra el cáncer. Parece evidente que los grandes avances terapéuticos podrían ocurrir como resultado de los conocimientos adquiridos sobre la biología molecular del cáncer y de las interacciones entre las poblaciones de células cancerosas y poblaciones de células no cancerosas en un paciente individual. De hecho estos son tiempos emocionantes en oncología en cuanto están apareciendo cada vez más oportunidades terapéuticas impensables hasta hace muy poco tiempo.

Figura 7. Aparición de factores angiogénicos secundarios durante el ciclo de vida del proceso tumoral



Valter R.M. Lombardi
biotecnologia@ebiotech.com

Referencias Bibliográficas:

1. Wiernik PH, Serpick AA. A randomized clinical trial of daunorubicin and a combination of prednisone, vincristine, 6-mercaptopurine, and methotrexate in adult acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Res* 1972; 32:2023-2026.
2. Cohen SM, Greenspan EM, Weiner MJ, Kabakow B. Triple combination chemotherapy of disseminated melanoma. *Cancer* 1972; 29:1489-1495.
3. Lenhard RE Jr, Prentice RL, Owens AH Jr, Bakemeier R, Horton JH, Shnider BI, Stolbach L, Berard CW, Carbone PP. Combination chemotherapy of the malignant lymphomas: a controlled clinical trial. *Cancer* 1976; 38:1052-1059.
4. Hertel PB, Tu D, Ejlersen B, Jensen MB, Balslev E, Jiang S, O'Malley FP, Pritchard KI, Shepherd LE, Bartels A, Brünner N, Nielsen TO. TIMP-1 in combination with HER2 and TOP2A for prediction of benefit from adjuvant anthracyclines in high-risk breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 132:225-234.
5. Aparicio LM, Pulido EG, Gallego GA. Vinflunine: a new vision that may translate into antiangiogenic and antimetastatic activity. *Anticancer Drugs* 2012; 23:1-11.
6. Alshehri A, Beale P, Yu JQ, Huq F. Synergism from Combination of Cisplatin and Multicentred Platins Coded as DH6Cl and TH1 in the Human Ovarian Tumour Models. *Med Chem* 2011; 7:593-598.
7. Bergamo A, Gaiddon C, Schellens JH, Beijnen JH, Sava G. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. *J Inorg Biochem* 2012; 106:90-99.
8. Nakatake H, Ekimoto H, Aso M, Ogawa A, Yamaguchi A, Suemune H. Dialkyl bisphosphonate platinum(II) complex as a potential drug for metastatic bone tumor. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2011; 59:710-713.

DEFIÉNDASE del MAL

“**AntiGan®** es un nuevo complejo lipoproteico extraído de la especie *C. conger* con propiedades inmunopotenciadoras y reguladoras del crecimiento celular”



LA SALUD QUE VIENE DEL MAR


ebiotec

+34 902 103 726
www.ebiotec.com

9. Komeda S. Unique platinum-DNA interactions may lead to more effective platinum-based antitumor drugs. *Metallomics* 2011; 3:650-655
10. de Cremoux P. Hormone therapy and breast cancer. *Bull Cancer* 2011; 98:1311-1319.
11. Fosker C, Adlard JW, Shaaban A. Tailoring therapy for locally advanced breast cancer using molecular profiles: are we there yet? *Drugs* 2011; 71:1947-1955.
12. Del Campo AB, Carretero J, Aptsiauri N, Garrido F. Targeting HLA class I expression to increase tumor immunogenicity. *Tissue Antigens* 2012; 79:147-154.
13. Whiteside TL. Disarming suppressor cells to improve immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61:283-8
14. Thoppil RJ, Bishayee A. Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World J Hepatol* 2011; 3:228-249.
15. Kamimura T, Miyamoto T, Harada M, Akashi K. Advances in therapies for acute promyelocytic leukemia. *Cancer Sci* 2011; 102:1929-1937.
16. Altman JK, Sassano A, Platanias LC. Targeting mTOR for the treatment of AML. New agents and new directions. *Oncotarget* 2011; 2:510-517
17. Satelli A, Li S. Vimentin in cancer and its potential as a molecular target for cancer therapy. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68:3033-3046.
18. Mitsiades CS, Davies FE, Laubach JP, Joshua D, San Miguel J, Anderson KC, Richardson PG. Future directions of next-generation novel therapies, combination approaches, and the development of personalized medicine in myeloma. *J Clin Oncol* 2011; 29:1916-1923.
19. Gardner GJ, Jewell EL. Current and future directions of clinical trials for ovarian cancer. *Cancer Control* 2011; 18:44-51.
20. Navada SC, Silverman LR. Therapeutic modalities for patients with lower-risk myelodysplastic syndromes: current options and future directions. *Curr Hematol Malig Rep* 2011; 6:5-12.
21. Wang X, Baek SJ, Eling T. COX inhibitors directly alter gene expression: role in cancer prevention? *Cancer Metastasis Rev* 2011; 30:641-657.
22. Zhou J, Ajsina KB, Himes BT, Strohschein GW, Saltzman WM. Novel delivery strategies for glioblastoma. *Cancer J* 2012; 18:89-99.
23. Blasberg R, Piwnicka-Worms D. Imaging: strategies, controversies, and opportunities. *Clin Cancer Res* 2012; 18:631-637.
24. Chabot S, Pelofy S, Paganin-Gioanni A, Teissie J, Golzio M. Electrotransfer of RNAi-based oligonucleotides for oncology. *Anticancer Res* 2011; 31:4083-4089.
25. Zhang S, Zhao Y, Zhi D, Zhang S. Non-viral vectors for the mediation of RNAi. *Bioorg Chem* 2012; 40:10-18.
26. Thorne SH. Next-generation oncolytic vaccinia vectors. *Methods Mol Biol* 2012; 797:205-215.
27. Wollmann G, Ozduman K, van den Pol AN. Oncolytic virus therapy for glioblastoma multiforme: concepts and candidates. *Cancer J* 2012; 18:69-81.
28. Rovnak J, Quackenbush SL. Walleye dermal sarcoma virus: molecular biology and oncogenesis. *Viruses* 2010; 2:1984-1999.
29. Baines AT, Xu D, Der CJ. Inhibition of Ras for cancer treatment: the search continues. *Future Med Chem* 2011; 3:1787-1808.
30. Willis RE. Human gene control by vital oncogenes: revisiting a theoretical model and its implications for targeted cancer therapy. *Int J Mol Sci* 2012; 13:316-335.
31. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004; 10:789-799.
32. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, Mackey J, Glaspy J, Chan A, Pawlicki M, Pinter T, Valero V, Liu MC, Sauter G, von Minckwitz G, Visco F, Bee V, Buyse M, Bendahmane B, Tabah-Fisch I, Lindsay MA, Riva A, Crown J; Breast Cancer International Research Group. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2011; 365:1273-1283.
33. Keyes KA, Albella B, LoRusso PM, Bueren JA, Parchment RE. Cytotoxic chemotherapy regimens that increase dose per cycle (dose intensity) by extending daily dosing from 5 consecutive days to 28 consecutive days and beyond. *Clin Cancer Res* 2000; 6:2474-2481.
34. Yang CS, Lopez CG, Rana TM. Discovery of nonsteroidal anti-inflammatory drug and anticancer drug enhancing reprogramming and induced pluripotent stem cell generation. *Stem Cells* 2011; 29:1528-36.
35. Alagkiozidis I, Facciabene A, Tsiatas M, Carpenito C, Benencia F, Adams S, Jonak Z, June CH, Powell DJ Jr, Coukos G. Time-dependent cytotoxic drugs selectively cooperate with IL-18 for cancer chemo-immunotherapy. *J Transl Med* 2011; 9:77.
36. Roos WP, Jöst E, Belohlavek C, Nagel G, Fritz G, Kaina B. Intrinsic anticancer drug resistance of malignant melanoma cells is abrogated by IFN- β and valproic acid. *Cancer Res* 2011; 71:4150-4160.
37. Alba E, Ruiz-Borrego M, Margelí M, Rodríguez-Lescure A, Sánchez-Rovira P, Ruiz A, Mel-Lorenzo JR, Ramos-Vázquez M, Ribelles N, Calvo E, Casado A, Márquez A, Vicente D, García-Sáenz JA, Martín M. Maintenance treatment with pegylated liposomal doxorubicin versus observation following induction chemotherapy for metastatic breast cancer: GEICAM 2001-01 study. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 122:169-76
38. Abraham SA, Waterhouse DN, Mayer LD, Cullis PR, Madden TD, Bally MB. The liposomal formulation of doxorubicin. *Methods Enzymol* 2005; 391:71-97.
39. Weissinger F, Reymond M, Dumke K, Krüger M. Successful treatment of a patient with HER2-positive metastatic gastric cancer with third-line combination therapy with irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin and trastuzumab (FOLFIRI-T). *Onkologie* 2011; 34:548-551.
40. Comella P, Massidda B, Natale D, Putzu C, Sandomenico C, Filippelli G, Palmeri S, Condemi G, Vessia G, Barberis G, Ionta MT, Tafuto S, Barbato E. Efficacy and tolerability of biweekly bevacizumab, irinotecan, folinic acid and fluorouracil intravenous bolus (BIFF Regimen) in patients with metastatic colorectal cancer: the southern Italy cooperative oncology group experience. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10:42-47.
41. Stutchbury TK, Vine KL, Locke JM, Chrisp JS, Bremner JB, Clingan PR, Ranson M. Preclinical evaluation of novel, all-in-one formulations of 5-fluorouracil and folinic acid with reduced toxicity profiles. *Anticancer Drugs* 2011; 22:24-34.
42. Barancik M, Bohacova V, Gibalova L, Sedlak J, Sulova Z, Breier A. Potentiation of anticancer drugs: effects of pentoxifylline on neoplastic cells. *Int J Mol Sci* 2012; 13:369-382.
43. de Hoon JP, Veeck J, Vriens BE, Calon TG, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC. Taxane resistance in breast cancer: A closed HER2 circuit? *Biochim Biophys Acta* 2012; 1825:197-206.
44. Majumder S, Jacob ST. Emerging role of microRNAs in drug-resistant breast cancer. *Gene Expr* 2011; 15:141-151.
45. Sathornsumetee S, Rich JN. Molecularly targeted therapy in neuro-oncology. *Handb Clin Neurol* 2012; 104:255-278.
46. Madoulet C, Perrin L, Tosi PF, Albert P. Anti-tumor immunotherapy against multidrug resistance. *Ann Pharm Fr* 2006; 64:87-96.
47. Boven E, Jansen WJ, Hulscher TM, Beijnen JH, van Tellingen O. The influence of P170-glycoprotein modulators on the efficacy and the distribution of vincristine as well as on MDR1 expression in BRO/mdr1.1 human melanoma xenografts. *Eur J Cancer* 1999; 35:840-849.