



NUEVAS DIANAS MOLECULARES EN CÁNCER DE GINECOLÓGICO

NEW MOLECULAR TARGETS IN GYNECOLOGICAL CANCER

Lizette Elena Leiva-Suero¹ <https://orcid.org/0000-0001-9899-029X>; Luis Fabián Salazar-Garcés¹ <https://orcid.org/0000-0002-5128-7211>; Graciela de las Mercedes Quishpe-Jara² <http://orcid.org/0000-0002-0461-0602>; Gerardo Fernández² <http://orcid.org/0000-0001-5196-2953>, Sandra Elizabeth Villacís Valencia¹ <http://orcid.org/0000-0002-9584-0680>, Jesús Onorato Chicaiza Tayupanta¹ <http://orcid.org/0000-0002-5777-2971>

¹Proyecto de Investigación PFCS42 Caracterización de marcadores genéticos e inmunológicos con valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico en cáncer de mama y cuello uterino. Grupo de Investigación Académica y Científica en Ciencias Biomédicas con Proyección Social KUSKIYKUY YACHAY SUNTUR. Carrera de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador

²Proyecto de Investigación PFCS42 Caracterización de marcadores genéticos e inmunológicos con valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico en cáncer de mama y cuello uterino. Grupo de Investigación Académica y Científica en Ciencias Biomédicas con Proyección Social KUSKIYKUY YACHAY SUNTUR. Carrera de Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador

2477-9172 / 2550-6692 Derechos Reservados © 2023 Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Enfermería. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons, que permite uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original es debidamente citada.

Recibido: 05 de febrero 2023

Aceptado: 25 de marzo 2023

RESUMEN

Introducción: El cáncer cérvico uterino es la segunda enfermedad oncológica más frecuente en la mujer a nivel mundial, con diagnóstico de más de 83000 casos nuevos anualmente y más de 30000 muertes, se estima un incremento del 45% para el año 2030. **Objetivo:** caracterizar marcadores genéticos e inmunológicos con valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico en el cáncer de cuello uterino. **Métodos:** Investigación aplicada, un estudio explicativo, longitudinal y prospectivo, que utilizó métodos estadísticos descriptivos e inferenciales. **Resultados:** Se logró identificar una alta prevalencia de infección por el Virus del Papiloma Humano, así como la disminución de la positividad de las proteínas BAX y Bcl-2 durante la progresión de la enfermedad neoplásica, como expresión de un desequilibrio en los mecanismos reguladores de la cascada apoptótica y alteración de las vías de señalización celular, como base para el desarrollo de inmunoterapias adyuvantes dirigidas a estas dianas moleculares. **Conclusiones:** La disminución de la expresión de las proteínas BAX y Bcl-2 durante la progresión del cáncer cérvico uterino, evidencia un deterioro en los mecanismos de apoptosis y pudieran considerarse como dianas moleculares para el desarrollo de inmunoterapias adyuvantes con impacto en la progresión de la enfermedad oncológica y la supervivencia atribuible.

Palabras clave: neoplasias del cuello uterino, apoptosis, proteína de susceptibilidad a apoptosis celular

ABSTRACT

Introduction: Cervical cancer is the second most frequent oncological disease in women worldwide, with more than 83,000 new cases diagnosed annually and more than 30,000 deaths, an increase of 45% is estimated by 2030. **Objective:** characterize genetic and immunological markers with diagnostic, prognostic and therapeutic value in cervical cancer. **Methods:** Applied research, an explanatory, longitudinal and prospective study, which used descriptive and inferential statistical methods. **Results:** It was possible to identify a high prevalence of infection by the Human Papillomavirus, as well as the decrease in the positivity of BAX and Bcl-2 proteins during the progression of neoplastic disease, as an expression of an imbalance in the regulatory mechanisms of the apoptotic cascade and alteration of cell signaling pathways, as a basis for the development of adjuvant immunotherapies targeting these molecular targets. **Conclusions:** The decrease in the expression of BAX and Bcl-2 proteins during the progression of cervical cancer evidences a deterioration in the mechanisms of apoptosis and could be considered as molecular targets for the development of adjuvant immunotherapies with impact on the progression of oncological disease and attributable survival.

Keywords: uterine cervical neoplasms, apoptosis, cellular apoptosis susceptibility protein

Autor de correspondencia: PhD. Lizette Elena Leiva-Suero. **Correo electrónico:** le.leiva@uta.edu.ec

INTRODUCCIÓN

El cáncer cérvico uterino es la segunda enfermedad oncológica más frecuente en la mujer a nivel mundial (1-3), representado un problema de salud pública en los países de bajos y medianos ingresos, en el año 2020 según la última estadística del Global Cancer Observatory (Globocan) se reportaron 604.000 casos nuevos y 342.000 muertes por cáncer de cuello uterino en todo el mundo, con mayor frecuencia en África subsahariana, Sudeste Asiático, América Latina y el Caribe. El 90% de las tasas de incidencia más altas de cáncer de cuello uterino se producen en el África subsahariana (4). En Asia El Programa Nacional de Detección del Cáncer en China, India, Indonesia, Japón, Corea y Tailandia reportaron una tasa cáncer de cuello uterino de 5,0-59,7% (5-6)

Las tasas de mortalidad son 3 veces más altas en América Latina y el Caribe que en Norteamérica (1-3), asociada a la infección por virus del papiloma humano (VPH), que es mayor en comparación con el promedio mundial, ya que el cáncer de cuello uterino es una consecuencia de una infección a largo plazo con el VPH con más de 50.000 casos nuevos de cáncer de cuello uterino por año (7).

La integración del genoma del VPH en el huésped, produce una desregulación de los procesos celulares como: aumento de la síntesis de ADN, proliferación celular, respuesta celular alterada a los factores de diferenciación y desequilibrio en el estado redox, que provoca un estrés oxidativo perjudicial conduciendo a la muerte celular o apoptosis, con el desarrollo de cáncer de cuello uterino, el 72 % pueden atribuirse a los tipos 16 y 18 de VPH y el 17% a los tipos de VPH 31, 33, 45, 52 y 58, el genoma del VPH se ha evidenciado en el 99,7% de las muestras de carcinoma de células escamosas de cuello uterino (8-10).

Las proteínas de la familia Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) se consideran uno de los principales reguladores de la apoptosis, que controlan la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, un paso central en la vía mitocondrial de la apoptosis (12). La anulación de las vías de apoptosis puede originar diversas patologías como el cáncer. La apoptosis puede iniciarse a través de la vía intrínseca (también conocida como mitocondrial), las proteínas BCL-2 proapoptóticas neutralizan las proteínas BCL-2 antiapoptóticas. La inactivación de las proteínas BCL-2 antiapoptóticas conduce a la translocación de BAX desde el citoplasma a la membrana mitocondrial externa, BAX se oligomeriza con BAK para inducir la permeabilización de la membrana externa mitocondrial que conduce a la liberación del citocromo c, activándose la caspasa-9, caspasas-3 y caspasas-7, para realizar el mecanismo de la apoptosis (13)

La identificación de nuevas dianas moleculares con fines diagnósticos, terapéuticos y pronósticos constituye una tarea de primer orden para el diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno, lo que implica detener la progresión de la enfermedad oncológica, mejorar la supervivencia y la calidad de vida de las pacientes. El objetivo del estudio fue caracterizar marcadores genéticos e inmunológicos con valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico en el cáncer de cuello uterino (1-3).

MÉTODOS

La metodología de esta investigación aplicada consiste en un estudio explicativo de corte experimental longitudinal y prospectivo, enfocado en el desarrollo de tecnologías avanzadas para la identificación y caracterización de marcadores genéticos y/o moleculares con potencial diagnóstico, terapéutico y/o pronóstico en pacientes con cáncer de cuello uterino.

Para llevar a cabo esta investigación, se utilizó una muestra representativa de pacientes diagnosticados con cáncer de cuello uterino. A continuación, se recolectaron muestras de tejido tumoral y sano de los sujetos, y se realizará un análisis moleculares e histológicas. A lo largo del estudio, se aplicarán métodos estadísticos descriptivos, como porcentaje, media y frecuencia, para describir y resumir las características de los datos obtenidos. También se utilizarán métodos estadísticos inferenciales, como indicadores de eficacia diagnóstica.

Los resultados del análisis de datos se presentarán mediante tablas dinámicas y gráficos descriptivos, utilizando el software estadístico SPSS versión 25. Este enfoque permitió una visualización clara y comprensible de los hallazgos, facilitando la interpretación.

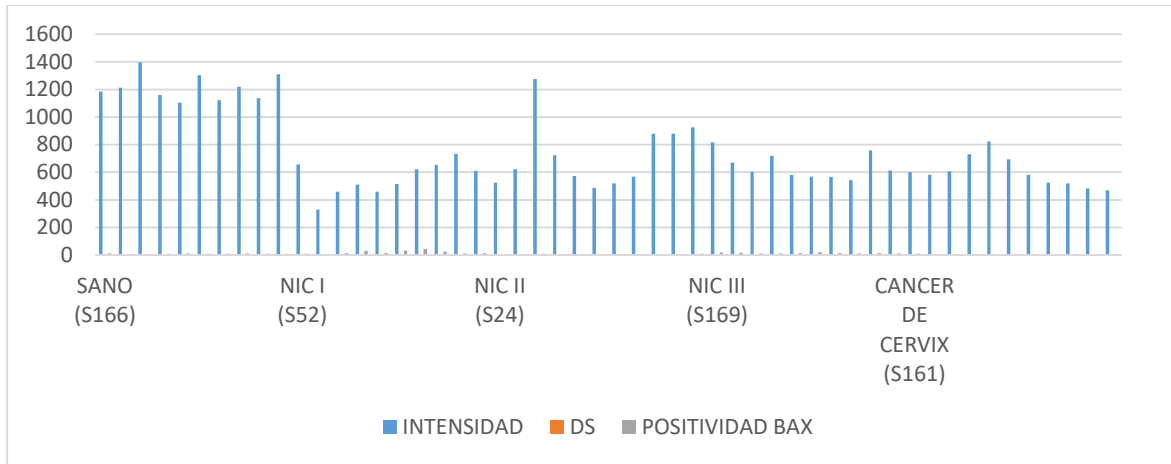
RESULTADOS

Las proteínas BCL-2 controlan la vía intrínseca de la apoptosis (14). Las proteínas pro-apoptóticas BAX y BAK pueden comprometer a una célula a su muerte programada mediante la permeabilización de la membrana mitocondrial externa (OMM) y la posterior iniciación de la cascada de las caspasas; por lo tanto, sus actividades están controladas con precisión por una compleja red de proteínas dentro y fuera de la familia BCL-2.

Se analizaron los resultados de 82 pacientes, la edad promedio fue de 42 años. 35 pacientes presentaban ciclos menstruales irregulares (42,7%). La multiparidad se manifestó en 52 pacientes (63,4%) con una moda de 4. El promedio de edad en la primera gestación fue de 18,4 años. 19 pacientes menopáusicas, el promedio de edad para la menopausia fue de 49 años. La edad promedio de la primera relación sexual fue los 18 años. El promedio de compañeros sexuales fue de 2. 32 pacientes tenían ligadura de trompas (39%). El uso del preservativo se evidenció sólo en 7 casos (8,5%). En 5 se comprobó el uso de dispositivos intrauterinos. El uso de duchas vaginales diarias en 13 casos (15,8%). el 100% con relaciones sexuales vaginales. La infección por el Virus del Papiloma Humano fue la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en 22 pacientes (26,8%).

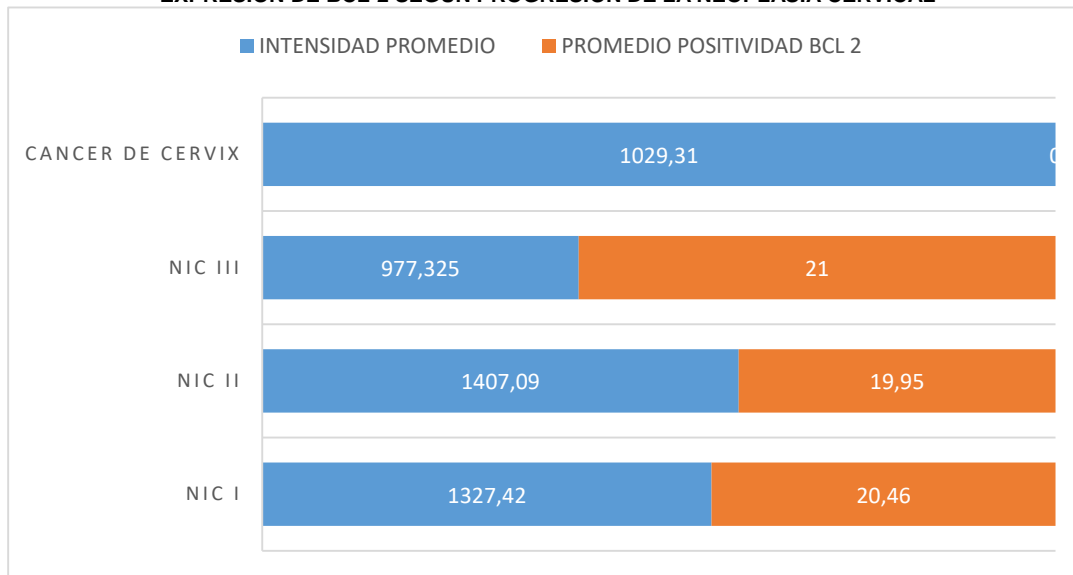
La Figura 1 muestra un descenso de la positividad de BAX en cáncer de cérvix con deterioro de señales proapoptóticas que favorecen la progresión de la Neoplasia Cervical.

FIGURA 1
EXPRESIÓN DE BAX SEGÚN PROGRESIÓN DE LA NEOPLASIA CERVICAL



La Figura 2 muestra una disminución en la positividad de Bcl-2 durante la progresión de la enfermedad neoplásica, lo cual demuestra el deterioro de mecanismos reguladores de la apoptosis que subyacen en la progresión de la enfermedad neoplásica de las pacientes.

FIGURA 2
EXPRESIÓN DE BCL-2 SEGÚN PROGRESIÓN DE LA NEOPLASIA CERVICAL



DISCUSIÓN

Las células sobreviven mediante el control constante de la translocación dinámica y la retrotranslocación de BAX y BAK a las mitocondrias y de vuelta al citosol (15). Los nuevos descubrimientos sobre el transporte BAX/BAK, las interacciones de la proteína BCL-2, el papel de las proteínas BH3 solo en la señalización de la apoptosis y el complejo BAX activo constituyen el fundamento para el desarrollo de nuevas estrategias en la terapia del cáncer y el análisis de la predisposición celular a la apoptosis (16). En el presente estudio se observa un desequilibrio entre los mecanismos proapoptóticos (BAX) y antiapoptóticos (Bcl-2) según la progresión de la enfermedad oncológica en el cérvix.

Se ha demostrado suficiente, la relación de la infección por el Virus de Papiloma Humano (VPH) y el desarrollo del cáncer cérvico uterino, al producir alteración de vías de señalización celular, que inciden en el metabolismo, transcripción y traducción de genes (17). La vía TLR juega un rol clave en el combate al virus, posee actividad inmune antitumoral (18); la vía Wnt/ β -catenina participa en la diferenciación, migración y adhesión celular (19) y la PI3K/Akt está relacionada con el crecimiento, la motilidad y la supervivencia celular per se (20).

Los estudios preclínicos destacan el papel de las proteínas proapoptóticas y antiapoptóticas en la progresión tumoral, lo cual fundamenta el desarrollo de nuevas inmunoterapias dirigidas a estas dianas moleculares entre las que se incluyen las proteínas BAX y Bcl-2 (21). Estas nuevas inmunoterapias adyuvantes al tratamiento tradicional en el cáncer de cérvix podrían tener un

impacto en el pronóstico de la enfermedad oncológica, enlenteciendo la progresión tumoral y prolongando la sobrevida (22).

Además, se han identificado mutaciones en los genes que codifican para BAX y Bcl-2 en diferentes tipos de cáncer, incluyendo el cáncer de cérvix (23). Estas mutaciones podrían ser biomarcadores potenciales para el diagnóstico temprano, la selección de terapias y el pronóstico de la enfermedad (24). Por lo tanto, la investigación futura debe centrarse en la identificación de nuevas dianas moleculares y en el desarrollo de terapias dirigidas que modulen de manera selectiva la función de BAX y Bcl-2, lo que podría mejorar el tratamiento y el pronóstico del cáncer de cérvix (25).

Dado que el VPH es un factor de riesgo bien establecido para el desarrollo de cáncer cérvico uterino (17), es crucial comprender cómo la infección por VPH interactúa con las vías de señalización celular y las proteínas apoptóticas en la progresión tumoral. Estudios recientes han demostrado que las proteínas oncoproteicas del VPH, E6 y E7, pueden alterar la función de las proteínas BAX y Bcl-2, contribuyendo así a la resistencia a la apoptosis y la progresión del cáncer (26).

La modulación de la función de BAX y Bcl-2 a través de la terapia génica o el uso de moléculas pequeñas ha mostrado resultados prometedores en modelos preclínicos de cáncer de cérvix (27,28). Además, la combinación de estas terapias dirigidas con inmunoterapias, como las vacunas terapéuticas contra el VPH, podría mejorar aún más la eficacia del tratamiento y ofrecer una estrategia terapéutica integral para el cáncer de cérvix (29,30).

En este contexto, es fundamental identificar biomarcadores que puedan predecir la respuesta al tratamiento y la progresión de la enfermedad en pacientes con cáncer de cérvix. La evaluación de la expresión de BAX y Bcl-2, así como las mutaciones en los genes que codifican estas proteínas, podría proporcionar información valiosa sobre la susceptibilidad de las células tumorales a la apoptosis y su respuesta a las terapias dirigidas (23,24).

REFERENCIAS

1. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;500(1):26-34. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.190.
2. Hauseman ZJ, Harvey EP, Newman CE, Wales TE, Bucci JC, Mintseris J, et al. Homogeneous oligomers of pro-apoptotic BAX reveal structural determinants of mitochondrial membrane permeabilization. *Mol Cell*. 2020;79(1):68-83. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.05.029.
3. Aouacheria A, Baghdiguian S, Lamb HM, Huska JD, Pineda FJ, Hardwick JM. Connecting mitochondrial dynamics and life-or-death events via Bcl-2 family proteins. *Neurochem Int*. 2017;109:141-161. DOI: 10.1016/j.neuint.2017.04.009.
4. Zhang X, Zeng Q, Cai W, Ruan W. Trends of cervical cancer at global, regional, and national level: data from the Global Burden of Disease study 2019. *BMC Public Health*. 2021;21(1):894. DOI: 10.1186/s12889-021-10907-5.
5. Aoki ES, Yin R, Li K, Bhatta N, Singhal S, Ocviyanti D, Saika K, et al. National screening programs for cervical cancer in Asian countries. *J Gynecol Oncol*. 2020;31(3):e55. DOI: 10.3802/jgo.2020.31.e55.
6. Chua B, Ma V, Asjes C, Lim A, Mohseni M, Wee HL. Barriers to and Facilitators of Cervical Cancer Screening among Women in Southeast Asia: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(9):4586. DOI: 10.3390/ijerph18094586.
7. Torres-Roman JS, Ronceros-Cardenas L, Valcarcel B, Bazalar-Palacios J, Ybaseta-Medina J, Carioli G, et al. Cervical cancer mortality among young women in Latin America and the Caribbean: trend analysis from 1997 to 2030. *BMC Public Health*. 2022;22(1):113. DOI: 10.1186/s12889-021-12413-0.
8. Hareža DA, Wilczyński JR, Paradowska E. Human Papillomaviruses as Infectious Agents in Gynecological Cancers. *Oncogenic Properties of Viral Proteins*. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1818. DOI: 10.3390/ijms23031818.
9. Hu C, Liu T, Han C, Xuan Y, Jiang D, Sun Y, et al. HPV E6/E7 promotes aerobic glycolysis in cervical cancer by regulating IGF2BP2 to stabilize m⁶A-MYC expression. *Int J Biol Sci*. 2022;18(2):507-521. DOI: 10.7150/ijbs.67770.
10. Bhattacharjee R, Das SS, Biswal SS, Nath A, Das D, Basu A, et al. Mechanistic role of HPV-associated early proteins in cervical cancer: Molecular pathways and targeted therapeutic strategies. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2022;174:103675. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2022.103675.

A pesar de los avances significativos en la comprensión de la biología del cáncer de cérvix y el papel de las proteínas apoptóticas en su progresión, aún quedan desafíos para trasladar estos conocimientos a la práctica clínica. Entre ellos se encuentran la heterogeneidad tumoral, la complejidad de las interacciones moleculares y la variabilidad en la respuesta al tratamiento entre los pacientes (31).

Finalmente, la investigación actual sobre el desequilibrio entre los mecanismos proapoptóticos y antiapoptóticos, como BAX y Bcl-2, en el cáncer de cérvix proporciona una base sólida para el desarrollo de terapias dirigidas y la identificación de biomarcadores útiles para el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad. La combinación de estas estrategias terapéuticas con inmunoterapias y la personalización del tratamiento según las características moleculares de cada paciente podrían mejorar significativamente el manejo del cáncer de cérvix y ofrecer nuevas esperanzas para los pacientes afectados por esta enfermedad.

CONCLUSIONES

La disminución de la positividad en la expresión de las proteínas BAX y Bcl-2 durante la progresión del cáncer cérvico uterino, es expresión de un deterioro en los mecanismos de apoptosis, lo cual constituye la base para el desarrollo de inmunoterapias adyuvantes dirigidas a estas dianas moleculares, que además han demostrado valor diagnóstico y pudieran impactar en la progresión de la enfermedad oncológica y la supervivencia.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Técnica de Ambato, al Grupo de Investigación Académica y Científica en Ciencias Biomédicas con Proyección Social KUSKIYKUY YACHAY SUNTUR y al Proyecto de Investigación PFCS 42 "Caracterización de marcadores genéticos e inmunológicos con valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico en cáncer de mama y cuello uterino".

11. Sakamoto J, Saito M, Zhang S, Takakura M, Takagi H, Sasagawa T. Determination of human papillomavirus type in archival tissue specimens of invasive cervical cancer using molecular mapping and E6/E7-based polymerase chain reaction. *PLoS One*. 2022;17(4):e0265996. DOI: 10.1371/journal.pone.0265996.
12. Morris JL, Gillet G, Prudent J, Popgeorgiev N. Bcl-2 Family of Proteins in the Control of Mitochondrial Calcium Signalling: An Old Chap with New Roles. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7):3730. DOI: 10.3390/ijms22073730. PMC8038216.
13. Abdul Rahman SF, Xiang Lian BS, Mohana-Kumaran N. Targeting the B-cell lymphoma 2 anti-apoptotic proteins for cervical cancer treatment. *Future Oncol*. 2020;16(28):2235-2249. DOI: 10.2217/fo-2020-0389
14. D'Aguzzo S, Del Bufalo D. Inhibition of anti-apoptotic Bcl-2 proteins in preclinical and clinical studies: current overview in cancer. *Cells*. 2020;9(5):1287. DOI: 10.3390/cells9051287.
15. Edlich F, Banerjee S, Suzuki M, Cleland MM, Arnoult D, Wang C, et al. Bcl-xL retrotranslocates Bax from the mitochondria into the cytosol. *Cell*. 2011;145(1):104-116. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.034.
16. Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(1):49-63. DOI: 10.1038/nrm3722.
17. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol*. 2015; 25:2-23. DOI: 10.1002/rmv.1822.
18. Chen Q, Sun L, Chen ZJ. Regulation and function of the cGAS–STING pathway of cytosolic DNA sensing. *Nat Immunol*. 2016;17(10):1142-1149. DOI: 10.1038/ni.3558.
19. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell*. 2012;149(6):1192-11205. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012.
20. Martini M, De Santis MC, Braccini L, Gulluni F, Hirsch E. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review. *Ann Med*. 2014;46(6):372-383. DOI: 10.3109/07853890.2014.912836.
21. Adams JM, Cory S. The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets. *Cell Death Differ*. 2018;25(1):27-36. DOI: 10.1038/cdd.2017.161.
22. Couzin-Frankel J. Cancer immunotherapy. *American Association for the Advancement of Science*; 2013. DOI: 10.1038/cdd.2017.161.
23. Zhou L, Wang Y, Zhou M, Zhang Y, Wang P, Li X, et al. HOXA9 inhibits HIF-1 α -mediated glycolysis through interacting with CRIP2 to repress cutaneous squamous cell carcinoma development. *Nat Commun*. 2018;9(1):1480. DOI: 10.1038/s41467-018-03914-5.
24. Su J, Zhou L, Xia M hui, Xu Y, Xiang X yan, Sun L kun. Bcl-2 family proteins are involved in the signal crosstalk between endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction in tumor chemotherapy resistance. *Biomed Res Int*. 2014;2014. DOI: 10.1155/2014/234370.
25. Soliman L, De Souza A, Srinivasan P, Danish M, Bertone P, El-Deiry WS, et al. The role of BCL-2 proteins in the development of castration-resistant prostate cancer and emerging therapeutic strategies. *Am J Clin Oncol*. 2021;44(7):374-382. DOI: 10.1097/COC.0000000000000829.
26. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(8):550-560. DOI: 10.1038/nrc2886.
27. Mitra T, Elangovan S. Cervical cancer development, chemoresistance, and therapy: a snapshot of involvement of microRNA. *Mol Cell Biochem*. 2021;476(12):4363-4385. DOI: 10.1007/s11010-021-04249-4.
28. Hsin IL, Chou YH, Hung WL, Ko JL, Wang PH. The application of arsenic trioxide in ameliorating ABT-737 target therapy on uterine cervical cancer cells through unique pathways in cell death. *Cancers (Basel)*. 2019;12(1):108. DOI: 10.3390/cancers12010108.
29. Tindle RW. Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(1):59-64. DOI: 10.1038/nrc700.
30. Lee SJ, Yang A, Wu TC, Hung CF. Immunotherapy for human papillomavirus-associated disease and cervical cancer: review of clinical and translational research. *J Gynecol Oncol*. 2016;27(5):e51. DOI: 10.3802/jgo.2016.27.e51.
31. Marth C, Landoni F, Mahner S, McCormack M, Gonzalez-Martin A, Colombo N. Cervical cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2017;28:72-83. DOI: 10.1093/annonc/mdx220.