

11. Terapia dirigida en tumores sólidos

BREZO MARTÍNEZ-AMORES MARTÍNEZ, RAQUEL MOLINA
VILLAVERDE y MELCHOR ÁLVAREZ-MON SOTO*

Servicio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Departamento de Medicina.
Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Universidad de Alcalá. Madrid

RESUMEN

El manejo diagnóstico y terapéutico de los pacientes con tumores malignos ha progresado intensamente durante los últimos años. La incorporación de conocimientos y técnicas de diferentes ciencias biológicas a la oncología ha contribuido a mejorar el modo de enfocar, aliviar y curar al enfermo que padece una neoplasia. Las células se convierten en cancerosas en un proceso de dos etapas consecutivas: proliferación descontrolada y/o supervivencia alterada y adquisición de capacidad invasiva y metastásica. Este proceso de desarrollo y diseminación de las células neoplásicas se produce dentro del organismo del paciente con capacidad defensiva constituida por el sistema inmune a la que supera e, incluso, utiliza en su propio crecimiento. Los nuevos fármacos de diseño molecular tienen como objetivo fundamental el control de la proliferación aunque una de sus grandes desventajas es que raramente existe una sola alteración genética responsable del desarrollo y progre-

* **Información de contacto:**

Doctor Melchor Álvarez-Mon Soto.

Servicio de Enfermedades del Sistema Inmune y Oncología. Departamento de Medicina. Hospital Universitario Príncipe de Asturias.

Universidad de Alcalá.

Telefono: +34 91 885 45 98.

e-mail: mademons@gmail.com

sión del cáncer, por lo que se necesita la utilización de varias moléculas en un mismo paciente para conseguir el control tumoral. En la actualidad existen diversos agentes multiselectivos dirigidos contra varias dianas moleculares con excelente perfil de respuesta. En el presente capítulo se analizan las principales vías de abordaje molecular terapéutico en tumores sólidos, con especial hincapié en las terapias que utilizan biomarcadores predictivos EGFR, la terapia antiangiogénica y los inhibidores de la ruta PI3K/AKT/mTOR.

Palabras clave: Angiogénesis tumoral. Biomarcadores. Anticuerpos monoclonales.

ABSTRACT

Guided therapy in solid tumors

The diagnostic and therapeutic management of patients with cancer has progressed strongly in recent years. The incorporation of knowledge and skills from different sciences in oncology has helped to improve the cure rates and provide relief for patients suffering from cancer. The cells become cancerous in a process of two consecutive phases: uncontrolled proliferation and/or altered survival and progress of invasive and metastatic capacity. This process of development and spread of neoplastic cells occurs in patients when cells overcome the immune system to promote its own growth. The new drugs have been designed to control the proliferation of cells but their main drawback is that is uncommon that a single genetic defect could be responsible for the development and progression of cancer, so the use of various molecules in a patient to control the tumor is required. There are now several multi selective agents aimed at molecular targets that have demonstrated excellent response profiles. In this chapter the main means of molecular therapeutic approaches in solid tumours are discussed, with special emphasis on predictive biomarkers for EGFR therapy, antiangiogenic therapy and PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors.

Keywords: Tumour angiogenesis. Biomarkers. Monoclonal antibodies.

1. INTRODUCCIÓN

El manejo diagnóstico y terapéutico de los pacientes con tumores malignos ha progresado de forma intensa y acelerada durante los últimos años. La incorporación de conocimientos y técnicas de diferentes ciencias biológicas y, en especial, de la biología molecular y de la inmunología a la oncología, han contribuido a mejorar el modo de enfocar, aliviar y curar al enfermo que padece una neoplasia. El cáncer se puede definir de acuerdo con distintos criterios celulares, moleculares y clínicos. Una definición operativa es la que establece que el cáncer es un conjunto de enfermedades esencialmente genéticas producidas por alteraciones de la secuencia nucleotídica o mutaciones en genes específicos como consecuencia de errores endógenos de la maquinaria celular o de la acción de factores exógenos (químicos, físicos y biológicos). En base a estas mutaciones, las células se convierten en cancerosas en un proceso de dos etapas consecutivas: proliferación descontrolada y/o supervivencia alterada y adquisición de capacidad invasiva y metastásica. En el curso de este proceso los fenómenos de señalización (factores de crecimiento, receptores, proteínas citoplasmáticas), de división celular, de control de muerte celular programada o apoptosis, etc., juegan un papel esencial. Además, los tumores ya establecidos necesitan de una formación de vasos nuevos (angiogénesis tumoral) que les asegure su supervivencia. Este proceso de desarrollo y diseminación de las células neoplásicas se produce dentro del organismo del paciente con capacidad defensiva constituida por el sistema inmune a la que supera e, incluso, utiliza en su propio crecimiento.

En base a todo ello, el tratamiento médico del cáncer debe asentarse sobre unas bases racionales del conocimiento de la proliferación, diferenciación, supervivencia, angiogénesis y apoptosis de los tumores. En este contexto los fármacos se diseñan y seleccionan de acuerdo al mecanismo de acción pretendido y el tratamiento debe ajustarse a cada paciente, gracias a un diagnóstico más preciso de los factores biológicos y moleculares de su enfermedad. De esta forma serán, a la vez, más selectivos y menos tóxicos.

Es importante recalcar que estos nuevos fármacos de diseño molecular tienen como objetivo fundamental el control de la proliferación (citostáticos) y que en un principio no están destinados a destruir células

tumorales (efecto citotóxico de la quimioterapia clásica), por tanto, su posología tenderá a ser prolongada o crónica. Una de sus grandes desventajas es que raramente existe una sola alteración genética (diana) responsable del desarrollo y progresión del cáncer, habitualmente están implicadas varias, por lo es razonable plantear la necesidad de sinergia entre varias moléculas en un mismo paciente y ser necesario utilizar varios agentes para conseguir el control tumoral. En la actualidad existen diversos agentes multiselectivos dirigidos contra varias dianas moleculares con excelente perfil de respuesta.

El avance en Oncología médica obliga a la realización de numerosos ensayos clínicos con inclusión de un número importante de pacientes y en definitiva una gran inversión económica. El objetivo principal de los investigadores será acelerar el paso de los descubrimientos científicos hacia su aplicación en clínica para la mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer.

Se analizan a continuación las principales vías de abordaje molecular terapéutico en tumores sólidos.

2. FAMILIA DEL RECEPTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO

La familia del receptor de crecimiento epidérmico humano está compuesta por cuatro receptores tirosinquinasa transmembrana homólogos: EGFR o ErbB1 o HER 1, ErbB2 o HER 2, ErbB3 o HER3 y ErbB4 o HER4. Estos receptores tienen un dominio extracelular de unión al ligando, un dominio lipofílico transmembrana y un dominio tirosinquinasa intracelular (1, 2). HER1, HER2 y HER4 tienen una actividad tirosinquinasa intrínseca mientras que HER3 es el único receptor de la familia que carece de esta actividad. Los ligandos que se unen incluyen el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor transformante de crecimiento alfa (TGF- α), la amfirregulina, la betacelulina y la epirregulina. Una segunda clase de ligandos, conocidos como neurregulinas se unen directamente a HER3 y/o HER4. Aún no se ha identificado ningún ligando para HER2. A pesar de ser un receptor huérfano de ligando, HER2 es el co-receptor preferido para HER1, HER3 y HER4. En cambio, HER3 se une a varios ligandos, pero debido a que es un receptor

deficiente requiere la heterodimerización con otro miembro de la familia ErbB para ser activado (1, 3).

La dimerización de los receptores resulta en la activación de la actividad de tirosinquinasa intrínseca y en la autofosforilación del dominio citoplasmático. Cada complejo del receptor puede activar diferentes vías de señalización, provocando una respuesta celular específica, lo que da lugar a la activación de una cascada de respuestas que regulan la proliferación celular, supervivencia, angiogénesis e invasión (1).

Existen muchas vías de señalización activadas por dímeros del ErbB, como Ras-Raf-MAPK, PI3K-AKT, PLC-1, Src, STATs y otros (4).

La mayoría de los miembros de la familia del EGFR se comportan como oncogenes cuando son sobreexpresados o mutados. Los tipos de mutaciones incluyen mutaciones sin sentido, deleciones e inserciones *in-frame* (5).

En este apartado nos vamos a centrar en los dos receptores del EGFR para los que se han desarrollado más fármacos y que permiten el subsiguiente bloqueo de las vías de señalización correspondientes.

2.1. HER2/NEU (Erb B2)

HER2/NEU es un oncogen humano clonado hace casi veinte años. Originalmente fue aislado en células de neuroblastoma de rata y después identificado en ADN humano. La sobreexpresión y/o amplificación de este oncogen fue inicialmente encontrada en carcinomas de mama y ovario. Se cree que tiene un papel en la carcinogénesis de varios tumores humanos y aumenta el potencial metastatizante de las células tumorales por distintos mecanismos. Además hay evidencias que lo asocian con una resistencia a varios citotóxicos.

La proteína que codifica es un receptor tirosinquinasa. Se expresa en bajos niveles en muchos tejidos normales, incluyendo tejido mamario sano y regula el crecimiento, diferenciación y muerte celular (6-8).

Alrededor de un 25% de los carcinomas de mama infiltrantes expresan anomalías del HER2, bien por amplificación génica o sobreexpresión de receptores de membrana. Se ha calculado que las células

epiteliales normales tienen entre 20.000 y 50.000 receptores de HER2/NEU de membrana, mientras que las células tumorales pueden tener hasta dos millones de receptores. La sobreexpresión en cáncer de mama se correlaciona en el tumor primario y las metástasis (9). Además, estos tumores suelen tener características histológicas de mal pronóstico como alto grado, actividad mitótica aumentada y ausencia de expresión de receptores hormonales. La sobreexpresión de HER2/NEU se considera un factor de mal pronóstico en las mujeres con cáncer de mama y tiene valor predictivo de mala respuesta al tratamiento con tamoxifeno (10).

2.1.1. *Trastuzumab*

Trastuzumab (Herceptin®) es un anticuerpo monoclonal humanizado dirigido contra el receptor HER2, que ha demostrado un importante efecto en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama que sobreexpresan HER2 (aproximadamente un 25-30% de los carcinomas invasivos). Es, además, el primer anticuerpo monoclonal que demuestra beneficio en la supervivencia como parte del tratamiento adyuvante (11, 12).

Trastuzumab induce la formación de homodímeros que, pese a ser capaces de producir una transfosforilación del receptor, no desencadenan la cascada de señales subyacente lo que hace que haya una inactivación funcional del receptor. Además, este anticuerpo contiene una fracción Fc de Ig humana que es capaz de activar la cascada del complemento humano y estimular el sistema inmune para que se dirija en contra de la célula tumoral (9).

Por otro lado, distintos estudios sugieren que el trastuzumab es capaz de revertir la resistencia a los fármacos citotóxicos. Ha demostrado un efecto sinérgico *in vitro* con las sales de platino, el docetaxel y el etópósido y un efecto aditivo con el paclitaxel, las antraciclinas, los alcaloides de la vinca, la capecitabina, la gemcitabina y antagonico con el 5 fluoracilo (13).

En el año 2005 se publicó un estudio internacional, multicéntrico y aleatorizado utilizando Trastuzumab en adyuvancia (estudio HERA). Se comparaba 1-2 años de tratamiento adyuvante con este fármaco frente a observación en pacientes con sobreexpresión de HER2/NEU una vez completado el tratamiento quimioterápico complementario estándar. Se

aleatorizaron un total de 5.100 pacientes y se objetivó un beneficio absoluto en la supervivencia global de 8,4% a dos años con una reducción de la tasa de recurrencia del 50%. No se demostraron diferencias significativas en la supervivencia global. Los resultados fueron significativos en todas las mujeres independientemente de la edad, estado del receptor hormonal, tamaño tumoral o número de ganglios linfáticos afectados. La incidencia de cardiotoxicidad severa fue de 0,5% (14).

En cáncer de mama metastásico se han realizado numerosos estudios fase II que han sugerido el interés de combinaciones de trastuzumab y diversos quimioterápicos, como el paclitaxel semanal, la vinorelbina, el docetaxel y la capecitabina (15-17).

Slamon y cols. exploraron la combinación de trastuzumab con quimioterapia en carcinomas avanzados de mama. Las pacientes sin quimioterapia previa adyuvante con antraciclinas recibieron adriamicina-ciclofosfamida y el resto paclitaxel. La adición de trastuzumab se asoció a un mayor tasa de respuestas con mayor tiempo hasta la progresión y una supervivencia media mayor aunque combinado con antraciclinas tuvo una tasa muy alta de cardiotoxicidad (27%) (18). También se han obtenido resultados positivos combinándolo con docetaxel (19).

Trastuzumab está aprobado en tumores HER2/NEU positivos (FISH positivos o 3 + por inmunohistoquímica) tanto en adyuvancia (doce meses de tratamiento) como en enfermedad metastásica en combinación con quimioterapia.

2.1.2. *Lapatinib*

El lapatinib (Tyverb®) es un potente inhibidor de HER1 y HER2 y se correlaciona con un prolongado bloqueo de la fosforilación del receptor en células tumorales. Una ventaja con respecto a trastuzumab es la inhibición de la forma truncada del HER2 que se correlaciona con una mayor progresión metastásica. En monoterapia tras progresión a varias líneas de quimioterapia ha demostrado un aumento de tasa de respuestas del 4-8% con beneficio clínico en el 18-20% de los pacientes. Se ha aprobado en combinación con capecitabina tras progresión a trastuzumab, antraciclinas y taxanos al objetivarse un aumento significativo del tiempo hasta la progresión (20).

La indicación actual de lapatinib es en carcinoma metastásico de mama tras progresión a trastuzumab y en combinación con capecitabina.

2.1.3. *Pertuzumab*

El anticuerpo anti-HER2 trastuzumab es efectivo en el tratamiento del carcinoma de mama con muy alta expresión de HER2 o con amplificación de su gen. Sin embargo, más del 75% de los tumores malignos de mama y la mayoría de otras neoplasias tienen una expresión moderada o baja de HER2 y expresan otros receptores de la familia HER. El crecimiento de estos tumores puede depender de la interacción entre estos receptores que se activan al formar dímeros entre sí (heterodímeros). Trastuzumab no puede impedir la formación de heterodímeros por lo que se han diseñado otros anticuerpos, entre los que figura el pertuzumab que en modelos preclínicos es tan activo en alta como en baja expresión de HER2 (21).

2.2. **Inhibidores selectivos del EGFR**

La expresión del EGFR ha sido evaluada en múltiples tumores sólidos y los que más la presentan son el carcinoma de cabeza y cuello (95-100%), el cáncer colorrectal (72-89%), el cáncer de pulmón no microcítico (40-80%) y los tumores malignos de mama (14-91%). La sobreexpresión del EGFR conlleva un peor pronóstico de la enfermedad tumoral y una peor respuesta a la quimioterapia (22).

Existen muchas estrategias para inhibir el receptor pero las más desarrolladas son los anticuerpos monoclonales que se unen al dominio externo y las moléculas de bajo peso molecular que inhiben la actividad tirosinquinasa del receptor a nivel intracelular.

Los dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra el EGFR con mayor desarrollo clínico son el cetuximab (Erbix[®]) y el panitumumab (Vectibix[®]). La principal diferencia es que el panitumumab es un anticuerpo completamente humanizado IgG2 con alta afinidad al EGFR.

En cuanto a las moléculas de bajo peso molecular que inhiben la actividad tirosinquinasa del receptor, las más desarrolladas son el erlotinib (Tarceva[®]) y el gefitinib (Iressa[®]).

2.2.1. *Cetuximab (C225, IMC-C225)*

Cetuximab es un anticuerpo monoclonal IgG1 quimérico humano-ratón (tiene dominios constantes humanos y dominios variables de origen murino) con un peso molecular de 154 kDa cuyo desarrollo se inició con estudios preclínicos que demostraron la sinergia del anticuerpo con radioterapia y varios fármacos quimioterápicos. Se une al EGFR con una alta especificidad y una afinidad diez veces mayor que sus ligandos naturales (EGFR y TGF alfa). Posteriormente se fueron desarrollando distintos ensayos clínicos.

EGFR es un protooncogen localizado en el cromosoma 7 que codifica una glicoproteína transmembrana de 170 kDa con tres dominios bien diferenciados: dominio extracelular de unión a ligandos, dominio lipofílico transmembrana de anclaje y un dominio intracelular con actividad tirosínquinasa para transducción de señales intracelulares. EGFR está implicado en la mediación del crecimiento, diferenciación y supervivencia celular.

El estudio de Saltz y cols. demostró la actividad de la combinación de irinotecán y cetuximab en pacientes con carcinoma colorrectal que previamente habían progresado a irinotecán. Posteriormente estos datos se confirmaron con un estudio aleatorizado en el que se incluyeron 329 pacientes con cáncer de colon avanzado tras progresión a irinotecán. Se demostró una alta tasa de respuesta en el brazo de combinación comparado con cetuximab en monoterapia (23).

Cetuximab en monoterapia fue comparado con el mejor tratamiento de soporte en otro estudio aleatorizado obteniendo una mejor supervivencia global y en parámetros de calidad de vida (24).

Tras los datos obtenidos en los ensayos anteriores, se exploró el papel de este anticuerpo monoclonal en primera línea de tratamiento para el carcinoma colorrectal metastásico tanto en combinación con irinotecán (estudio CRISTAL) (25) como con oxaliplatino (estudio OPUS) (26). En ambos se obtiene beneficio en el tiempo hasta progresión y en la tasa de respuestas. En un análisis posterior se obtuvo que en el subgrupo de pacientes que presentaban tumores con mutaciones de k-ras no se observó ventajas en dichos parámetros.

Actualmente, cetuximab está aprobado en el carcinoma colorrectal en combinación con irinotecán u oxaliplatino o en monoterapia en los pacientes que presenten k-ras no mutado.

El cáncer de cabeza y cuello es un tumor altamente EGFR dependiente (se expresa en el 90% de esta neoplasia) y la actividad clínica del cetuximab ha conllevado a su aprobación para las siguientes indicaciones: en combinación con radioterapia como primera línea de tratamiento en tumores localmente avanzados (27) y como monoterapia en carcinomas recurrentes o metastásicos refractarios a platinos. Estudios recientes también han demostrado su efectividad en primera línea en combinación con quimioterapia basada en platinos aumentando el tiempo hasta la progresión, la supervivencia global y la tasa de respuestas (28).

Otra de las indicaciones de este anticuerpo monoclonal es en el carcinoma de pulmón no microcítico donde se ha obtenido una mayor tasa de respuestas y un mayor tiempo hasta la progresión en comparación con quimioterapia sola en primera línea (estudio FLEX) independientemente del subtipo histológico (29).

Como conclusiones, podemos decir que cetuximab es un anticuerpo monoclonal quimérico seguro al combinar con quimioterapia y con radioterapia y que está aprobado en el carcinoma colorrectal avanzado (en combinación en el tratamiento de primera línea en aquellos tumores sin mutaciones de k-ras, en monoterapia tras fracaso a otras líneas terapéuticas y en combinación tras fracaso a irinotecán), en el carcinoma no microcítico de pulmón de cualquier histología en combinación con quimioterapia en primera línea y en carcinoma de cabeza y cuello (en primera línea con quimioterapia en tumores metastásicos, en monoterapia tras fracaso a otras líneas terapéuticas y en adición a radioterapia en carcinomas localmente avanzados).

2.2.2. *Panitumumab (ABX-EGF)*

Como ya se ha mencionado, panitumumab es un anticuerpo monoclonal totalmente humanizado específico del dominio extracelular del EGFR. Actúa bloqueando la unión de ligandos e inhibiendo su proliferación, crecimiento tumoral e inducción de la apoptosis. La actividad

radica en su habilidad para bloquear exactamente la zona de unión al ligando y presenta una afinidad por EGFR mayor que cetuximab (0,05 vs 0,39 nmol/l).

En un ensayo multicéntrico, 463 pacientes refractarios al 5-fluoracilo, irinotecán y oxaliplatino fueron aleatorizados al mejor tratamiento de soporte con o sin panitumumab. La tasa de respuestas obtenidas con el anticuerpo monoclonal fue del 10% y en un 27% de los casos se obtuvo estabilización de la enfermedad (30).

Su efectividad, por tanto, es intercambiable con cetuximab y también se ha demostrado una falta de eficacia en pacientes con tumores con k-ras mutados. Con respecto al cetuximab presenta la ventaja adicional de una menor tasa de reacciones infusionales al tratarse de un anticuerpo totalmente humanizado y su administración cada dos o tres semanas y el inconveniente de que todavía no hay resultados definitivos en primera línea de tratamiento (hasta el momento sólo se han obtenido datos de seguridad).

Actualmente, tiene indicación aprobada en carcinoma colorrectal avanzado en monoterapia tras fracaso a distintas líneas de quimioterapia y en los casos de reacciones infusionales graves a cetuximab (en ambos casos en tumores sin mutaciones de k-ras).

2.2.3. *Erlotinib y gefitinib*

El tratamiento de los pacientes con un carcinoma de pulmón no microcítico que han progresado tras una primera línea de quimioterapia constituye un importante problema. Hay dos moléculas de pequeño tamaño inhibitoras del EGFR, erlotinib y gefitinib, que se desarrollaron inicialmente en la segunda línea de tratamiento tras fallo de los regímenes de quimioterapia de primera línea. Así, erlotinib mostró un aumento de supervivencia similar al obtenido con una segunda línea de agentes citotóxicos (31).

Posteriores estudios demostraron que hay una serie de características clínicas y moleculares que son útiles para predecir aquellos pacientes que se beneficiarían más de su utilización: adenocarcinomas, raza caucásica, no fumadores, mujeres.

En el carcinoma de páncreas también se ha demostrado un aumento modesto de supervivencia global con la combinación de un quimioterápico (gemcitabina) con erlotinib en primera línea de tratamiento en un ensayo fase III llevado a cabo por el Instituto Nacional del Cáncer de Canadá en 569 pacientes con carcinoma de páncreas localmente avanzado o metastásico (32).

Actualmente, erlotinib tiene indicación aprobada en carcinoma no microcítico de pulmón metastásico tras progresión a platinos y en carcinoma de páncreas localmente avanzado o metastásico en combinación con gemcitabina en primera línea.

3. ANGIOGÉNESIS

3.1. Bases fisiológicas

La angiogénesis es el proceso por el cual se desarrollan nuevos vasos sanguíneos a partir de un lecho vascular preexistente. Sus principales artífices son las células endoteliales, que forman una monocapa tapizando la superficie interna de todos los vasos sanguíneos y que se encuentran íntimamente ligadas a la lámina basal (matriz extracelular) manteniendo una relación estrecha con las células musculares lisas (pericitos) y con el tejido conectivo circulante. En un individuo normal (angiogénesis fisiológica) queda reducida a procesos relacionados con el ciclo reproductivo, la cicatrización de heridas y la reparación de fracturas óseas. En estos casos, tiene lugar como un proceso transitorio y estrechamente controlado mediante el equilibrio entre una serie de señales positivas (proangiogénicas) y negativas (antiangiogénicas), de forma que cuando desaparece el estímulo original, el proceso se detiene, desconectándose el llamado interruptor angiogénico.

Por el contrario, un desequilibrio entre dichas señales puede conectar dicho interruptor, conduciendo así a una angiogénesis mantenida, persistente y anormal que es característica de algunas enfermedades como el cáncer.

En el proceso de angiogénesis tumoral existen dos fases: La primera es una fase avascular en la que los tumores no superan 1-2 mm diámetro y permanecen latentes en un estado de equilibrio entre la proliferación

celular y la apoptosis. Algunos de estos pequeños tumores consiguen pasar a una segunda fase (vascular) en la que el tumor crece de forma exponencial (33). En ésta, las células tumorales adquieren el fenotipo angiogénico y son capaces, por si mismas o en cooperación con células del estroma del hospedador, de inducir una reacción proangiogénica en endotelios vasculares cercanos, cuyo resultado final es la formación de una red vascular nueva, derivada de la preexistente que irriga el tumor aportándole el oxígeno y los nutrientes necesarios para crecer. La nueva vasculatura permite además la diseminación del tumor, ya que las células tumorales pueden acceder a la circulación sanguínea atravesando las paredes de la red vascular tumoral para formar metástasis en lugares distantes.

Para que esta reacción proangiogénica tenga lugar, las propias células tumorales y las de su entorno son capaces de secretar sustancias que son esencialmente las señales positivas del interruptor; Se trata de factores de crecimiento que se unen a sus receptores específicos en las células endoteliales favoreciendo la proliferación, migración e invasión de las células tumorales con la consiguiente formación de los capilares sanguíneos tumorales.

3.2. Mecanismos reguladores de la angiogénesis tumoral

Entre los factores de crecimiento promotores de la angiogénesis, y que están mejor caracterizados, destacan algunos de tipo polipeptídico tales como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento placentario (PIGF), el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor necrosante de tumores alfa (TNF- α). Otros mediadores solubles de la angiogénesis, con un importante papel en la amputación y desarrollo de los vasos formados, son el factor de crecimiento derivado de plaquetas y las angiopoyetinas. Entre los inhibidores endógenos de la angiogénesis están la trombospondina, vasoinhibina y varios polipéptidos generados por proteólisis parcial de otras proteínas como angiostatina, endostatina, tumstatina y vasostatina (34).

De todos ellos, el que parece tener un papel más relevante es VEGF. Se conocen al menos cuatro miembros de la familia VEGF (A, B, C y D).

Las proteínas VEGF se expresan en células tumorales y del entorno en respuesta a diversos estímulos como la hipoxia y ciertos oncogenes (35). Se han identificado tres tipos de receptores para VEGF (VEGFR 1-2 y 3) con distintas funciones biológicas. Los receptores de tipo 1 y 2 se localizan en células endoteliales vasculares fundamentalmente (también en células dendríticas y tumorales) en tanto que el tipo 3 se expresa sobre todo en células endoteliales linfáticas. Al recibir a su ligando, se activan las vías intracelulares necesarias que conllevan en último término al crecimiento, la proliferación descontrolada y la inhibición de la apoptosis (muerte celular programada) de la célula endotelial. De este modo el VEGF regula angiogenesis y linfangiogénesis. El más importante es el VEGF-A que consiste en una proteína homodimérica básica de unión a la heparina, formada por dos unidades idénticas. Estimula el crecimiento de las células endoteliales vasculares mediante su unión a VEGFR1 y 2 (el más importante).

3.3. Terapia antiangiogénica

La importancia de la angiogénesis en el desarrollo tumoral ha llevado a la creación de múltiples fármacos con actividad antiangiogénica. Existen dos aproximaciones terapéuticas: Anticuerpos monoclonales e inhibidores del VEGFR tirosín quinasa.

3.3.1. *Anticuerpos monoclonales*

Sobre todo destaca el empleo de anticuerpos contra VEGF y en particular del bevacizumab (Avastín®) por ser el fármaco con mayor desarrollo investigacional y el primero en llegar a la clínica.

El **bevacizumab** es un anticuerpo monoclonal recombinante humanizado (93% humano y 7% murino) administrado por vía endovenosa con periodicidad quincenal que se une al VEGF, de modo que impide su unión con el receptor. Su mecanismo de acción no es totalmente conocido pero actúa sobre isoformas de VEGF-A bloqueando su acción sobre el VEGFR-2 dando lugar a dos fases de respuesta al fármaco: Primero normaliza la vasculatura tumoral permitiendo un mejor acceso de los fármacos (racional para su posicionamiento en primera línea ya

que los fármacos que mejor llegan serán los más activos) y a continuación induce una regresión de los mismos, controlando de esta forma el autoabastecimiento tumoral y la diseminación metastásica. Además se postula que podría haber un reclutamiento de la respuesta inmune a través de citotoxicidad mediada por complemento y/o dependiente de anticuerpo (36).

Fue aprobado en 2004 por la FDA para su empleo en cáncer de colon metastático en base a los resultados de un ensayo clínico americano fase III en el que se comparaba un esquema de quimioterapia estándar en primera línea de tratamiento (IFL; Irinotecan + 5 fluorouracilo + leucovorin) sólo o con el anticuerpo, demostrándose aumento significativo de la supervivencia libre de progresión (SLP), tasa de respuesta (TR) y de la supervivencia global (SG) para el brazo que contenía bevacizumab frente a la quimioterapia sólo (37). Estudios posteriores han confirmado estos resultados con diferentes esquemas de quimioterapia (38, 39).

El beneficio de bevacizumab en segunda línea de cáncer colorrectal diseminado se demostró por primera vez en un ensayo fase III con pacientes que habían progresado a quimioterapia basada en irinotecan en primera línea. Los pacientes se randomizaban a recibir FOLFOX (esquema de combinación de oxaliplatino, 5-fluorouracilo y leucovorin) con bevacizumab, FOLFOX sólo o bevacizumab sólo hasta progresión. Nuevamente el grupo de combinación obtuvo los mejores resultados estadísticamente significativos en TR, SLP y SG. Este estudio valió la aprobación del fármaco en segunda línea de cáncer colorrectal metastático (40). Actualmente se está investigando si es viable utilizar el anticuerpo como tratamiento único de mantenimiento tras una serie de ciclos de quimioterapia más anticuerpo, ya que permitiría prolongar el tiempo a la progresión con menos efectos adversos. No hay resultados positivos de momento aunque se ha demostrado que mantener el anticuerpo y cambiar de esquema de quimioterapia ante progresión tumoral es una estrategia adecuada que impacta positivamente en la supervivencia global (41).

Paralelamente al enorme desarrollo de este anticuerpo en cáncer colorrectal, su investigación ha permitido la aprobación por las agencias reguladoras para su uso en clínica en primera línea de cáncer de mama (42) y pulmón no microcítico avanzado irresecable en combina-

ción con quimioterapia (43) y en los cánceres renales metastásicos en combinación con inmunoterapia (44). Los resultados continúan siendo experimentales aunque prometedores en otros tumores sólidos y está a punto de aprobarse su indicación en tumores cerebrales tipo glioblastoma multiforme irresecable.

La toxicidad fundamental de este fármaco consiste en hemorragia, proteinuria, hipertensión arterial, fenómenos tromboembólicos, trastornos de la cicatrización de las heridas y perforación gastrointestinal.

3.3.2. *Inhibidores del VEGFR tirosín quinasa*

Los inhibidores tirosín quinasa son pequeñas moléculas que se unen al dominio ATP de los residuos tirosín-quinasa del dominio interno del receptor impidiendo la cascada de señalización intracelular que confiere a la célula su fenotipo tumoral. Suelen ser agentes multidiana, es decir con capacidad de bloqueo de más de un tipo de receptor y por tanto, potencialmente bloqueadoras de varias vías de proliferación tumoral (multitargeted therapy). Todos son tratamientos orales

Dentro de este grupo de inhibidores VEGFR cabe mencionar:

Sunitinib (Sutent[®]) inhibe VEGFR-2 PDGFR- β , c-KIT y Flt-3. Esta molécula está aprobada desde el año 2006 para el tratamiento del tumor del estroma gastrointestinal refractario a imatinib y desde el 2007 para primera línea de tratamiento del cáncer renal de células claras metastático de buen o intermedio pronóstico en base a su superioridad en términos de supervivencia y tasa de respuesta (45).

Las toxicidades más frecuentes fueron astenia, náuseas, diarrea estomatitis y decoloración del pelo, siendo menos frecuentes la hipertensión arterial, edema periférico, depresión y toxicidad hematológica.

El **sorafenib** (Nexavar[®]) es un inhibidor de VEGFR-1-2-3, c-KIT, Flt-3, PDGFR- β , p38.alfa y raf-quinasa aprobado para su uso en clínica desde el año 2007 en el tratamiento de segunda línea de cáncer renal metastático (46) y de primera para el hepatocarcinoma (47). Los efectos secundarios más frecuentes fueron el rash cutáneo, síndrome mano-pie, diarrea e hipertensión arterial.

Valatanib (PTK 787/ZK) tiene un efecto inhibitorio predominante sobre los receptores VEGF tipo 1 y 2, aunque también sobre otros receptores (VEGFR-3, c-KIT y PDGFR- β). En modelos preclínicos ha demostrado una potente actividad antiangiogénica y también efecto antitumoral (48). Actualmente se realizan ensayos clínicos randomizados para evaluar su eficacia y permitir su aprobación.

Otras moléculas en estudio son **Vandetanib**, **Pazopanib**, etc...

3.3.3. *Otras estrategias antiangiogénicas*

Existen además otras estrategias antiangiogénicas, que continúan en fase experimental aunque algunas ya han llegado a la investigación clínica como es el empleo de receptores solubles para neutralizar el VEGF (**VEGF-trap**), inhibidores de su expresión o antagonistas de la unión del factor a su receptor.

4. VÍA PI3K/AKT/MTOR

4.1. Componentes moleculares de la ruta

Esta vía controla muchos procesos celulares normales como proliferación, crecimiento, supervivencia y motilidad, críticos a su vez en los procesos de tumorigénesis. El conjunto de proteínas que conducen a la activación de las proteínas mTOR se conocen como reguladores upstream (situados por encima de mTOR en la vía).

Tanto los receptores con actividad tirosín quinasa de factores de crecimiento como receptores acoplados a proteínas G (menos importantes en esta vía) pueden activar la proteína intracelular fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K). Por su actividad quinasa PI3K es capaz de activar proteínas mediante la emisión de un grupo fosfato activado y cataliza la conversión de fosfatidilinositol 4-5 bifosfato (PIP2) a fosfatidilinositol 3-4-5 trifosfato (PIP3) activándola, mientras que la proteína PTEN, principal reguladora negativa de esta vía, desfosforila PIP3, desactivándola. A su vez PIP3 fosforila AKT y ésta es capaz de fosforilar otras proteínas implicadas en el crecimiento, entrada al ciclo y supervivencia celular.

AKT puede fosforilar directamente mTOR o a través de proteínas secundarias (49).

El principal efecto de la activación de mTOR (downstream) es el control de la traducción regulando proteínas iniciadoras y quinasas ribosomales, de forma que su activación conduce al incremento de la traducción del ARNm. A nivel de la transcripción mTOR controla positivamente la actividad de la ARN polimerasa. También se ha propuesto la asociación de mTOR con p53 y la vía de apoptosis.

4.2. Estrategias para el abordaje terapéutico de la ruta

La implicación de la ruta en sus diversos niveles, en los procesos oncogénicos y su frecuente activación en un amplio número de tumores, sugieren que el bloqueo de la misma podría simultáneamente inhibir la proliferación celular y sensibilizar a las células a la apoptosis (muerte celular programada) en diferentes contextos tumorales. En este sentido, la actividad quinasa que muestran muchos elementos de la vía los convierte en candidatos atractivos. A continuación se describen los diferentes estadios de la ruta en los que son factibles las intervenciones terapéuticas:

- Inhibidores de receptores de crecimiento con actividad tirosín quinasa (RTK).
- Inhibidores de PI3K.
- Inhibidores de AKT.
- Inhibidores de mTOR.

La investigación terapéutica de esta vía se ha centrado principalmente en el último apartado. Dado que la ruta regula muchos procesos fisiológicos, los inhibidores frente a dianas más inferiores de la vía actuarían de forma más selectiva. En el grupo de inhibidores de mTOR se ha realizado un inmenso esfuerzo investigador permitiendo que algunas moléculas estudiadas hayan llegado ya a la clínica. Veamos algunos ejemplos:

4.2.1. Rapamicina (*Sirolimus*®)

El macrólido rapamicina fue originalmente descubierto como un antifúngico e inmunosupresor aprobado por la FDA para evitar el rechazo

zo de pacientes trasplantados. Pero además se observó que rapamicina era capaz de inhibir la función de mTOR mediante su unión con una proteína ligando intermedia conocida como FK506 (50). Dado que las proteínas mTOR (mTOR significa mamalian target of rapamycin ya que recibieron el nombre en base a este descubrimiento) controlan el crecimiento y la proliferación celular, esta observación ha conducido a los investigadores a estudiar el efecto antiproliferativo de la rapamicina en neoplasias malignas. La rapamicina ha demostrado una impresionante actividad preclínica contra una amplia variedad de cánceres humanos. La pobre solubilidad y estabilidad química, junto con la falta de interés en promocionarlo como agente anticanceroso, excluyó el desarrollo clínico del fármaco.

Recientemente se han sintetizado y evaluado varios análogos de la rapamicina con mejor hidrosolubilidad y estabilidad. Temsirolimus (CCI 779) y Everolimus (RAD 001) son los más desarrollados como agentes anticancerosos, basándose en su perfil antitumoral, las características farmacológicas y toxicológicas en estudios preclínicos.

4.2.2. *Temsirolimus*

Diversos estudios fase I y II han evaluado el perfil de toxicidad y farmacocinética de esta molécula, determinando que su posología de administración ha de ser 25 mg en infusión endovenosa semanal de 30 minutos. Las principales toxicidades son cutáneas (foliculitis asépticas, erupciones maculopapulares, reacciones eczematoides, ungueales...), trombocitopenia, alteración de las enzimas hepáticas e hipocalcemia asintomática. No se documentó inmunosupresión evidente.

Bajo el nombre comercial de Torisel[®], las agencias reguladoras han aprobado este fármaco para su uso en primera línea de cáncer renal metastásico en pacientes de mal pronóstico en base a un ensayo randomizado que llevaron a cabo Hudes y cols.

En este estudio los pacientes eran randomizados a recibir tratamiento con interferón como brazo control, temsirolimus o la combinación de ambas. Se demostró que la supervivencia libre de progresión era superior con temsirolimus respecto a interferón y que la combinación de los dos fármacos añadía toxicidad sin incremento de eficacia (51).

También se ha estudiado su combinación con quimioterapia encontrándose una tasa excesivamente alta de toxicidades severas quizá por solapamiento de toxicidades.

Su uso en tumores renales es la única aprobación del fármaco de momento, aunque están puestos en marcha muchos otros ensayos clínicos en otros tumores sólidos en los que también se ha ratificado la eficacia de la molécula, por lo que pronto estarán a nuestra disposición en el ámbito clínico.

4.2.3. *Everolimus*

Los estudios fase I han evaluado principalmente la administración oral diaria y semanal. A dosis de 10 mg/diarios se consiguen inhibiciones sostenidas en la mayoría de los paciente (52). Las principales toxicidades fueron anorexia, astenia, rash, mucositis, hiperlipidemia, cefalea y trastornos gastrointestinales, en grado leve a moderado en la mayoría de los casos.

Los estudios *in vitro* han mostrado efectos sinérgicos o aditivos con diferentes fármacos incluyendo citotóxicos (paclitaxel, adriamicina, gemcitabina), inhibidores de la traducción de señales (imatinib, gefitinib, erlotinib) y agentes hormonales (letrozol).

En un amplio estudio fase III publicado por el grupo NCI en el año 2008, esta molécula ha demostrado frente a placebo un aumento significativo de supervivencia libre de progresión en pacientes con cáncer renal avanzado tras fracaso a sunitinib o sorafenib. Este estudio ha supuesto su aprobación por la FDA desde marzo de 2009 bajo el nombre comercial de Afinitor[®]. En España se prevé su comercialización inminente.

5. C-KIT COMO DIANA TERAPÉUTICA

5.1. Bases moleculares

KIT (CD117) es una glicoproteína transmembrana con actividad tirosinquinasa que se expresa en células hematopoyéticas, células intersticiales de Cajal, células germinales, mastocitos y melanocitos. Actúa como

receptor de factor de crecimiento de células Stem (células madre, en inglés, Stem Cell Factor o SCF). Su unión induce homodimerización del receptor y desencadena actividad tirosín quinasa en el interior de la célula, con fosforilación de sustratos y traducción de señales intracelulares del citoplasma al núcleo lo que provoca, en última instancia, la activación de genes específicos que inducen la proliferación y división celulares.

Las rutas intracelulares implicadas en este proceso, son quinasas MAP, AKT, p70/85S6K, STAT-1 y 3. PI3K y mTOR.

En cáncer, KIT se puede activar de forma anormal por mutaciones en los diferentes exones del gen que codifica la proteína. De esta forma, KIT se activa constitutivamente en ausencia de su unión al ligando (53).

De la secuenciación sistemática del gen de esta proteína (c-KIT) se ha demostrado que la mayoría de las mutaciones encontradas se localizan en el exon 11 (que codifica para el área yuxtamembranosa proteica) y, en menor número, en los exones 9 y 13.

5.2. GIST (tumores del estroma gastrointestinal)

Los GIST son un grupo heterogéneo de tumores mesenquimales que se han considerado clásicamente como provenientes del músculo liso del tubo digestivo, pero hoy se conoce por estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos, que estas neoplasias pueden presentar diferenciación neural, muscular o ambas. En ellas se ha encontrado una alta expresión de KIT, por lo que podemos afirmar en la actualidad que su origen son las células intersticiales de Cajal, una célula marcapaso importante para el movimiento autónomo del tracto gastrointestinal y que regula la peristalsis del tubo digestivo (54).

La mayoría de los GIST expresan de manera constitutiva formas mutadas de KIT o con mucha menor frecuencia del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas tipo alfa (PDGFR- α) que funcionaría de forma similar. Se ha podido comprobar que del 57 al 71% de las mutaciones se producen en el exón 11 de c-KIT. Otras mutaciones están en el 9, 13 y 17 (4-17%). La presencia de estas mutaciones determinan la activación del receptor en ausencia de su ligando, induciendo una proliferación y división incontroladas, propias del cáncer (oncogen c-KIT).

5.3. Mesilato de Imatinib (Glivec®)

Imatinib actúa inhibiendo la actividad de varias tirosín quinastas, entre ellas KIT y PDGFR, uniéndose al bolsillo de fijación de ATP en la parte intracelular de estos receptores y, por tanto, impidiendo la fosforilación de los sustratos. Basándose en el hecho racional de que la activación anómala de estos receptores son claves en la tumorigénesis del GIST, Imatinib ha supuesto una revolución en su tratamiento, desde su aplicación en clínica (55).

En estudio pivotal que permitió su aprobación para pacientes con GIST metastático fue publicado por Demetri y colaboradores en el año 2002 administrado a dosis de 400 mg diarios (56).

Los efectos adversos más comunes relacionados con el uso del fármaco han sido edema leve, periorbitario o en miembros inferiores. Es rara la presencia de derrame pleural, pericárdico o anasarca y suele responder a la restricción hídrica o diuréticos. También es llamativa su toxicidad cutánea consistente en dermatitis exfoliativa, rash persistente e hipopigmentación, sobre todo. En menor frecuencia se han descrito náuseas, vómitos y diarrea. La toxicidad hematológica es poco relevante.

Posteriores estudios clínicos de fase III identificaron dos grupos de pacientes en los que se obtiene un beneficio claro con dosis de 800 mg diarios. En primer lugar, aproximadamente una tercera parte de los pacientes en los que el tumor progresó con la dosis inicial de 400 mg presentaron una respuesta parcial o estabilización tras un incremento de dosis hasta 800 mg diarios. En segundo lugar, pacientes con mutaciones en el exon 9 de KIT presentaron un aumento significativo de supervivencia libre de progresión al ser tratados inicialmente con la dosis de 800 mg, aunque esto no se tradujo en incremento de supervivencia global posterior y sí en una mayor toxicidad. En general, las guías de práctica clínica recomiendan iniciar tratamiento a dosis de 400 mg y para los pacientes con mutaciones en el exón 9 se puede iniciar a 800 mg, si bien se necesitan más datos para establecer definitivamente esta recomendación. En caso de progresión a primera línea con 400 mg existe la opción de escalada de dosis con un control minucioso de efectos adversos. Se recomienda mantener el tratamiento de forma indefinida hasta la progresión.

Una vez que los pacientes han respondido a imatinib o han alcanzado una estabilización de su proceso, la enfermedad debe ser monitorizada con TC y/o PET para detectar progresión potencial. En este sentido es importante recalcar que los criterios de respuesta establecidos para los tumores sólidos (RECIST) no son superponibles para los tratamientos con dianas moleculares, especialmente en GIST. No sólo es necesaria la medición de sus lesiones para definir progresión sino que es aún más importante determinar un aumento de su grado de captación medido por unidades Hounsfield. Es por ello que, recientemente, se han publicado y debe ser obligado su uso en clínica los criterios de Choi para la evaluación de GIST (57).

La resistencia a Imatinib constituye un problema terapéutico ya que los enfermos que no responden de entrada (resistencia primaria) o dejan de responder (resistencia secundaria) tienen bajísimas opciones de tratamiento con fármacos clásicos.

La resistencia primaria puede ser definida como aquella que ocurre en los primeros meses de terapia, suele ser multifocal y, en estos tumores, suele verse con mayor frecuencia mutaciones en el exón 9 y KIT salvajes sin mutaciones. La resistencia secundaria puede ser parcial, en algunas lesiones mientras que otras continúan bajo el control del fármaco, o multifocal en todas ellas.

Los mecanismos de resistencia a imatinib son heterogéneos y se pueden clasificar en:

- Adquisición de una nueva mutación en KIT o PDGFR-alfa que se añade a la ya existente.
- Sobreexpresión de KIT por amplificación genómica de c-KIT de modo que imatinib no pueda bloquear a todos los receptores que expresa la célula tumoral.
- Activación de receptores alternativos de tirosinquinazas que puede acompañarse de una pérdida de la expresión de la proteína KIT.
- Resistencia funcional evidenciada por la activación de KIT o PDGFR- α en ausencia de una mutación genómica secundaria.

En casos de aparición de esta resistencia, se debe plantear tratamiento con sunitinib, ya que en un ensayo clínico randomizado frente a

placebo ha demostrado incremento significativo del tiempo a la progresión (58).

En base a todos los datos conocidos en el apartado metastático, se ha llevado a cabo estudios con imatinib en adyuvancia con resultados preliminares positivos en supervivencia libre de enfermedad aunque aún no se puede establecer una recomendación madura sobre la eficacia y duración de dicho tratamiento.

6. AGENTES MULTISELECTIVOS

No cabe duda de que se han logrado encontrar dianas moleculares sólo presentes en células cancerosas y desarrollar agentes selectivos contra ellas, sin embargo nos encontramos aun lejos de utilizarlos de forma óptima, ya que uno de los principales problemas ha sido la aparición de resistencias secundarias en estas moléculas. Por ello, una vía relativamente reciente de investigación ha desarrollado moléculas que no actúan exclusivamente sobre una diana terapéutica sino que se pueden considerar promiscuas y que actuarán a distintos niveles. Se trata de las denominadas moléculas inhibidoras de quinasas multidianas (multitargeted kinase inhibitors). Muchas de estas moléculas actúan también sobre uno de los factores que ha cobrado más relevancia en los últimos años en el tratamiento de cáncer como es la angiogénesis tumoral. La ventaja estriba en que inhiben a la vez distintas vías señalizadoras y esto, puede ser importante porque los tumores tiene vías activadas de forma redundante.

Aunque muchas se encuentran en fase preclínica, algunas de ellas están ya comercializadas para su uso en distintos tumores, como hemos visto descritos en este capítulo:

Lapatinib: Inhibidor de tirosín quinasa de EGFR (HER 1) y HER 2.

Sorafenib: Inhibidor de tirosín quinasa de VEGFR-1-2-3, c-KIT, Flt-3, PDGFR- β , p38.alfa y raf-quinasa.

Sutent: Inhibidor de tirosín quinasa de VEGFR-2 PDGFR- β , c-KIT y Flt-3.

Imatinib: Inhibidores de tirosín quinasa de BCR-ABL, c-KIT y PDGFR- α .

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Marmor, M. D., Shakira, K. B. & Yarden, Y. (2004) Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **58(3)**: 903-13.
2. Albanell, J., Codony, J., Rovira, A. *et al.* (2003) Mechanism of action of anti-HER 2 monoclonal antibodies: scientific update on trastuzumab and 2C4. *Adv. Exp. Med. Biol.* **532**: 253-68.
3. Arteaga, C. L. (2002) Overview of epidermal growth factor receptor biology and its role as a therapeutic target in human neoplasia. *Semin. Oncol.* **95** (5 suppl 14): 3-9.
4. Taron, M., Ichinose, Y., Rosell, R. *et al.* (2005) Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinomas. *Clin. Cancer Res.* **11(16)**: 5878-85.
5. Villena, M. & Albanell, J. (2006) Nuevos agentes frente a receptores de la familia del factor de crecimiento epidérmico. En: Albanell, J. ed. You&Us, SA. Madrid, 2006; *Nuevas dianas terapéuticas en cáncer*, 17-34.
6. Ross, J. S. & Fletcher, J. A. (1998) The HER2/NEU oncogene in breast cancer: prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *Stem Cells.* 413-428.
7. Press, M. F., Bernstein, L., Thomas, P. A. *et al.* (1997) HER2/NEU gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridisation: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J. Clin. Oncol.* **15**: 2894-2904.
8. Joensuu, H., Isola, J., Lundin, M. *et al.* (2003) Amplification of erbB2 and erbB2 expression are superior to estrogen receptor status as risk factors for distant recurrence in pT1N0M0 breast cancer: a nationwide population-based study. *Clin. Cancer Res.* 923-930.
9. Martín, M., López-Tarruela, S. & Puente, J. (2006) Anticuerpos monoclonales antiHER2/NEU en cáncer de mama. En: Díaz Rubio, E. ed. You&Us, SA. Madrid. *Nuevas dianas terapéuticas*, 15-25.
10. Salmón, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G. *et al.* (1987) Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER2/NEU oncogene. *Science.* **235**: 177-82.
11. Hortobagyi, G. N. (2005) Trastuzumab in the treatment of breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **354(6)**: 567-78.
12. Piccart-Gebhart, M. J., Procter, M., Leyland-Jones, B. *et al.* (2005) Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **353(16)**: 1659-72.
13. Pegram, M., Hsu, S., Lewis, G. *et al.* (1999) Inhibitory effects of combinations of HER2/NEU antibody and chemotherapy agents used for the treatment of human breast cancers. *Oncogene.* **18**: 2241-51.

14. Piccart-Gebhart, M. J., Procter, M., Leyland-Jones, B. *et al.* (2005) Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2 positive breast cancer. *NEJM*. **353(16)**: 1659-72.
15. Esteve, F. J., Valero, V., Booser, D. *et al.* (2002) Phase II study of weekly docetaxel and trastuzumab for patients with HER2 overexpressing metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.* **10**: 1800-8.
16. Burstein, H. J., Harris, L. N., Marcom, P. K. *et al.* (2003) Trastuzumab and vinorelbine as first line therapy for Her2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. *J. Clin. Oncol.* **2003**, **21**: 2889-95.
17. O'Shaughnessy, J. A., Vukelja, S., Marsland, T. *et al.* (2004) Phase II study of trastuzumab plus gemcitabine in chemotherapy-pretreated patients with metastatic breast cancer. *Clin. Breast Cancer*. 142-147.
18. Slamon, D. J., Leyland-Jones, B., Shak, S., Fuchs, H., Paton, V., Bajamonde, A. *et al.* (2002) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N. Engl. J. Med.* **344**: 783-792.
19. Marty, N., Cognetti, F., Maranchini, D. *et al.* (2005) Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2- positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: The M77001 Study Group. *J. Clin. Oncol.* **23**: 4265-74.
20. Geyer, C. E., Forster, J., Lindquist, D. *et al.* (2006) Lapatinib plus capecitabine for Her2 positive advanced breast cancer. *NEJM*. **355(26)**: 2733-43.
21. Agus, D. B., Gordon, M. S., Taylor, C. *et al.* (2005) Phase I clinical study of pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor in patients with advanced cancer. *J. Clin. Oncol.* **23(1)**: 2534-43.
22. Baselga, J. (2001) Targeting the epidermal growth factor receptor: a clinical reality. *J. Clin. Oncol.* **19**: 41s-44s.
23. Saltz, L. B., Meropol, N. J. & Loehrer, P. J. (2001) Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* **20**: abstract 7.
24. Cunningham, D., Humblet, Y., Siena, S. *et al.* (2004) Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **351(4)**: 337-45.
25. Van Cutsem, E., Nowaki, M. & Lang, I. (2007) Randomized phase III study of irinotecan and 5FU/FA with or without cetuximab in the first line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: the CRYSTAL trial 2007. *J. Clin. Oncol.* **25**: abstract 400.
26. Venook, A., Niedzwicki, D. & Hollis, D. (2006) Phase III study of irinotecan/5FU/LV (FOLFIRI) or oxaliplatin/5FU/LV (FOLFOX) ± cetuximab for patients with untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (MCRC): CALGB 80203 preiminary results (abstract). *J. Clin. Oncol.* **24**: 148s.

27. Bonner, J. A., Harari, P. M., Giralt, J. *et al.* (2006) Radiotherapy plus cetuximab for squamous cell carcinoma of the head and neck. *NEJM*. **354(6)**: 567-78.
28. Vermorken, J. B., Messia, R., Rivera, F. *et al.* (2008) Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N. Engl. J. Med.* **359(11)**: 1116-27.
29. Pirker, R., Szczesna, A. & von Pawel, J. (2008) FLEX: A randomized, multi-center, phase III study of cetuximab in combination with cisplatin/vinorelbine (CV) *versus* CV alone in the first-line treatment of patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) (abstract). *J. Clin. Oncol.* **26**: 1006s.
30. Van Cutsem, E., Peeters, M. & Siena, S. (2007) Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* **25**: 1658-1664.
31. Shepherd, F. A., Rodrigues Pereira, J. & Ciuleanu, T. (2005) Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* **353**: 123.
32. Moore, M. J., Goldstein, D. & Hamm, J. *et al.* (2007) Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J. Clin. Oncol.* **25(15)**: 1960-6.
33. Bergers, G. & Benjamín, L. E. (2003) Tumorigenesis and the angiogenesis switch. *Nat. Rev. Cancer.* **3**: 401-10.
34. Ferrara, N. & Kerbel, N. (2005) Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature.* **438**: 967-74.
35. Kerbel, R. & Folkman, J. (2002) Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat. Rev. Cancer.* **2**: 727-39.
36. Jubb, A. M., Hurwitz, H. I., Bai, W. *et al.* (2006) Impact of vascular endothelial growth factor-A expresión and microvessel density on the treatment effect of bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* **26**: 217-27.
37. Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W. *et al.* (2004) Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **350**: 2335-42.
38. Saltz, L. B., Clarke, S., Diaz-Rubio, E. *et al.* (2008) Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J. Clin. Oncol.* **26(12)**: 2013-9.
39. Hochster, H. S., Hart, L. L., Ramanathan, R. K. *et al.* (2008) Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results of the TREE Study. *J. Clin. Oncol.* **26(21)**: 3523-9.
40. Giantonio, B. J., Catalana, P. J., Meropol, N. J. *et al.* High-dose bevacizumab improves survival when combined with FOLFOX4 in previously treated advanced colorectal cancer: Results from the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study E3200.

41. Grothey, A., Sugrue, M. M., Purdie, D. M., *et al.* (2008) Bevacizumab beyond first progression is associated with prolonged overall survival in metastatic colorectal cancer: Results from a large observational cohort study (BRiTE). *J. Clin. Oncol.* **26(33)**: 5326-34.
42. Miller, K., Wang, M., Gralow, J. *et al.* (2007) Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **357(26)**: 2666-76.
43. Reck, M., von Pawel, J., Zatloukal, P. *et al.* (2009) Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first line therapy for nonsquamous non-small cell lung cancer: AVAIL. *J. Clin. Oncol.* **27**: 1227-1234.
44. Escudier, B., Pluzanska, A., Koralewski, P. *et al.* (2007) Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet.* **370(9605)**: 2103-11.
45. Motzer, R. J., Hutson, T. E., Tomczak, P. *et al.* (2007) Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **356(2)**: 115-24.
46. Escudier, B., Eisen, T., Stadler, W. M. *et al.* (2007) Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **356(2)**: 125-34.
47. Llovet, J. M., Ricci, S., Mazzaferro, V. *et al.* (2008) Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **359(4)**: 378-90.
48. Word, J. M., Bold, G., Buchdunger, E. *et al.* (2000) PTK 787/ZK 222584, a novel and potent inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, impairs vascular endothelial growth factor-induced responses and tumor growth alter oral administration. *Cancer Res.* **60**: 2178-89.
49. Bjornsti, M. A. & Houghton, P. J. (2004) The TOR pathway: A target for cancer therapy. *Nar. Rev. Cancer.* **4**: 335-48.
50. Heitman, J., Movia, N. R., Hall, M. N. *et al.* (1991) Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant rapamycin in yeast. *Science.* **253**: 905-9.
51. Hudes, G., Carducci, M., Tomczak, P. *et al.* (2007) Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **356(22)**: 2271-81.
52. O'Donnell, A., Faivre, S., Judson, I. *et al.* (2003) A phase I study of the oral mTOR inhibitor RAD 001 as monotherapy to identify the optimal biologically effective dose using toxicity, pharmacokinetic and pharmacodynamic endpoints in patients with solid tumors. *Proa. Am. Soc. Clin. Oncol.* **22**: 200.
53. Demetri, G. D. (2001) Targeting c-KIT mutations in solid tumors: scientific rationales and novel therapeutic options. *Sem. Oncol. Supl.* **17**: 19-26.
54. Thomsen, L., Robinsno, T. L., Lee, J. C. *et al.* (1998) Interstitial cells of cajal generate a rhythmic pacemaker current. *Nat. Med.* **4**: 841-8.
55. Heinrich, M. C., Corless, C. L., Demetri, G. D. *et al.* (2003) Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J. Clin. Oncol.* **21(23)**: 4342-49.
56. Demetri, G. D., Von Mehren, M., Blande, C. D. *et al.* (2002) Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N. Engl. J. Med.* **347**: 472-80.

57. Choi, H., Charnsangavej, C., Faria, S. C. *et al.* (2007) Correlation of computed tomography (CT) and positron emission tomography (PET) in patients with metastatic GIST treated at a single institution with imatinib mesylate: proposal of new CT response criteria. *J. Clin. Oncol.* **25**: 1753-99.
58. Demetri, D., Van Oosterom, A. T., Garret, C. R. *et al.* (2006) Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours after failure of imatinib. *Lancet.* **368**: 1329-38.



Socios de la Fundación José Casares Gil de Amigos de la Real Academia Nacional de Farmacia a quien expresamos nuestra sincera gratitud por su mecenazgo:

CAJA MADRID

Farmaindustria

Roche Farma

Laboratorios Janssen-Cilag
Alcaliber, S. A.
Almirall, S. A.
Bristol-Myers Squibb, S. L.
Grupo Ferrer Internacional
Laboratorios Esteve
Laboratorios MSD
Laboratorios Rovi
Novartis Farmacéutica
Tedec-Meiji Farma, S. A.
Sanofi-Aventis
Laboratorios Menarini

Aragofar

Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos
Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid

Colegios Oficiales de Farmacéuticos de: A Coruña, Alicante, Badajoz, Barcelona, Bizkaia, Burgos, Cáceres, Cádiz, Ciudad Real, Girona, Palencia, Principado de Asturias, Santa Cruz de Tenerife, Tarragona, Toledo y Zaragoza.