



**universidad
de león**



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**INHIBIDORES TIROSÍN QUINASA EN
EL TRATAMIENTO DEL
HEPATOCARCINOMA AVANZADO**

**TYROSINE KINASE INHIBITORS IN
THE TREATMENT OF ADVANCED
HEPATOCARCINOMA**

Autor: Alejandro Pérez Vieiros

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Julio, 2021

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1. PROTEÍNAS TIROSÍN QUINASA | 1 |
| 1.1. Receptores tirosín quinasa | 1 |
| 1.1.1. Activación de los RTKs | 2 |
| 1.1.2. RTKs y etiología oncológica..... | 3 |
| 1.2. Inhibidores de RTKs | 4 |
| 2. HEPATOCARCINOMA | 6 |
| 2.1. Incidencia y factores de riesgo | 7 |
| 2.2. Carcinogénesis hepática | 9 |
| 2.3. Diagnóstico y tratamiento | 10 |
| OBJETIVOS | 11 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 12 |
| DEFINICIÓN DE LA PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN CON EL SISTEMA PICOC. | 12 |
| BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA. | 13 |
| RESULTADOS | 14 |
| 1. PAPEL DE LOS RTKs EN LA CÉLULA | 14 |
| 1.1. RTKs en condiciones fisiológicas | 15 |
| 1.2. RTKs en estados oncogénicos | 17 |
| 1.2.1. Mutaciones de ganancia de función | 18 |
| 1.2.2. Sobreexpresión genómica | 18 |
| 1.2.3. Reordenamientos cromosómicos | 19 |
| 1.2.4. Duplicación de los dominios quinasa..... | 19 |
| 1.2.5. Activación autocrina | 19 |
| 2. RTKs EN EL HEPATOCARCINOMA | 20 |
| 3. INHIBIDORES DE RTKs PARA EL TRATAMIENTO CONTRA EL CÁNCER | 21 |
| 3.1. Resistencia a TKIs | 23 |
| 4. TERAPIAS SISTÉMICAS PARA EL TRATAMIENTO DE CHC AVANZADO | 23 |
| 4.1. Tratamientos sistémicos de primera línea | 24 |
| 4.1.1. TKIs de primera línea | 24 |
| 4.1.1.1. Sorafenib | 24 |
| 4.1.1.2. Lenvatinib | 24 |
| 4.1.2. Inmunoterapia de primera línea | 25 |
| 4.2. Tratamientos sistémicos de segunda línea | 25 |
| 4.2.1. TKIs de segunda línea | 25 |
| 4.2.1.1. Regorafenib..... | 25 |
| 4.2.1.2. Cabozantinib | 26 |
| 4.2.2. Inmunoterapia de segunda línea | 26 |
| 4.2.2.1. Ramucirumab | 26 |
| 4.2.2.2. Nivolumab | 26 |
| 4.2.2.3. Pembrolizumab | 26 |
| CONCLUSIONES | 27 |
| PERSPECTIVAS FUTURAS | 28 |
| REFERENCIAS | 29 |

RESUMEN

El hepatocarcinoma o carcinoma hepatocelular (CHC) se ha convertido en el tipo de neoplasia más común dentro del cáncer hepático. Este tipo de cáncer presenta una elevada tasa de mortalidad, siendo actualmente el tercer cáncer con mayor mortalidad a nivel mundial. Los receptores tirosín quinasa (RTKs) son glicoproteínas de membrana que participan en la activación de numerosas vías de señalización, relacionadas principalmente con procesos de proliferación, migración, angiogénesis, crecimiento, supervivencia y diferenciación celular. Las vías activadas por RTKs aparecen desreguladas con frecuencia en CHC y contribuyen al desarrollo y progresión tumoral. Por ello, estos receptores se han convertido en importantes dianas para la búsqueda de nuevos tratamientos eficaces frente a este tipo de cáncer. Los inhibidores tirosín quinasa (TKIs) son moléculas que bloquean de forma selectiva la activación de los RTKs. El amplio espectro de acción de estos inhibidores y su demostrada eficacia han llevado a la aprobación de varios TKIs como tratamiento sistémico del CHC en estadio avanzado. No obstante, a pesar de los resultados prometedores obtenidos, en ocasiones el tratamiento fracasa y se desarrolla resistencia a estos TKIs. Por esta razón, se continúa trabajando en la búsqueda de nuevas moléculas que actúen como TKIs más eficaces y seguros.

Palabras clave: hepatocarcinoma, inhibidores tirosín quinasa, receptores tirosín quinasa, terapia sistémica.

ABSTRACT

Hepatocarcinoma or hepatocellular carcinoma (HCC) has become the most common type of neoplasm within liver cancer. This type of cancer has a high mortality rate, leading as the third cancer with the highest mortality worldwide. Receptor tyrosine kinases (RTKs) are membrane glycoproteins involved in the activation of numerous signaling pathways, mainly related to the processes of cell proliferation, migration, angiogenesis, growth, survival and differentiation. Pathways activated by RTKs appear frequently deregulated in HCC and contribute to tumor development and progression. Therefore, these receptors have become important targets for the search of new effective treatments against this type of cancer. Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) are molecules that selectively inhibit the activation of RTKs. The broad range of action and the well-known efficacy of these inhibitors have led to the approval of several TKIs as systemic therapies against advanced HCC. Nevertheless, despite the promising results obtained, treatment often fails and TKIs resistance develops. For this reason, work continues on the search for new molecules that act as more effective and safer TKIs.

Keywords: hepatocarcinoma, tyrosine kinase inhibitors, tyrosine kinase receptors, systemic therapy.

INTRODUCCIÓN

1. Proteínas tirosín quinasa

Las tirosín quinasa (TKs) son enzimas que transfieren grupos γ -fosfato, procedentes de adenosina trifosfato (ATP), hacia residuos de tirosina que forman parte de su sustrato. Estas enzimas pueden aparecer ancladas a la membrana mediante un dominio transmembrana, dando lugar a los receptores tirosín quinasa (RTKs), o pueden aparecer libres en cuyo caso son TKs que no funcionan como receptores (NRTKs) (Smidova *et al.*, 2021). En ambos casos, la transferencia del grupo fosfato provoca un cambio conformacional y funcional en la proteína, influyendo en la regulación de vías de señalización intracelular relacionadas con la proliferación y el crecimiento celular, la angiogénesis o la diferenciación celular (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

En humanos, la familia de proteínas TK se subdivide en varias subfamilias, 20 de ellas RTKs y 10 NRTKs, que difieren en función de la secuencia de su dominio quinasa y del ligando que reconocen. Así, en total existen aproximadamente 90 miembros pertenecientes a la familia de proteínas TK, de los cuales 58 son RTKs y 32 son NRTKs (Smidova *et al.*, 2021).

1.1. Receptores tirosín quinasa

Los RTKs son glicoproteínas situadas en la membrana celular que se encargan de la transducción de señales extracelulares al medio intracelular. Todos presentan una estructura molecular similar (Lemmon y Schlessinger, 2010) (**Figura 1a**):

- Dominio extracelular hidrófilo.
- Dominio transmembrana hidrofóbico.
- Región intracelular o citoplasmática.

El dominio extracelular N-terminal porta la región de unión al ligando y varía en función de la subfamilia y del ligando específico. El dominio transmembrana está constituido por una α -hélice que posibilita la unión a la membrana lipídica. La región intracelular contiene el dominio proteico TK, dominios reguladores yuxtamembrana y una cola C-terminal (Lemmon y Schlessinger, 2010). Cabe destacar que el dominio TK presenta una estructura bilobulada y entre ambos lóbulos se encuentra el sitio de unión del ATP (Gotink y Verheul, 2010) (**Figura 1a**).

La unión del ligando es específica, reversible y se establece mediante fuerzas débiles como puentes de hidrógeno, fuerzas hidrofóbicas o fuerzas de Van der Waals. Los ligandos de

los RTKs son proteínas solubles que se unen a la membrana citoplasmática como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor estimulador de las colonias de macrófagos (MCSF) o la insulina. Cada uno de estos ligandos se une específicamente a un tipo de RTK (Lemmon y Schlessinger, 2010; Qin *et al.*, 2019; Pottier *et al.*, 2020; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

1.1.1. Activación de los RTKs

En ausencia de ligando la gran mayoría de RTKs forman estructuras monoméricas, presentando una actividad quinasa basal debida a leves fenómenos de autofosforilación. En este estado el receptor se encuentra inactivo (Smidova *et al.*, 2021). Cuando el ligando se une a la región extracelular de los RTKs monoméricos se produce un cambio conformacional que activa los dominios TK y se establecen interacciones entre distintos monómeros, dando lugar a complejos diméricos u oligoméricos. Tras la dimerización, se producen fenómenos de trans-autofosforilación, es decir, los dominios TK activos de un monómero fosforilan residuos tirosina del propio monómero y del monómero con el que dimeriza, dando lugar a los RTKs activos, con gran actividad tirosín quinasa (Lemmon y Schlessinger, 2010; Pottier *et al.*, 2020) (**Figura 1b**).

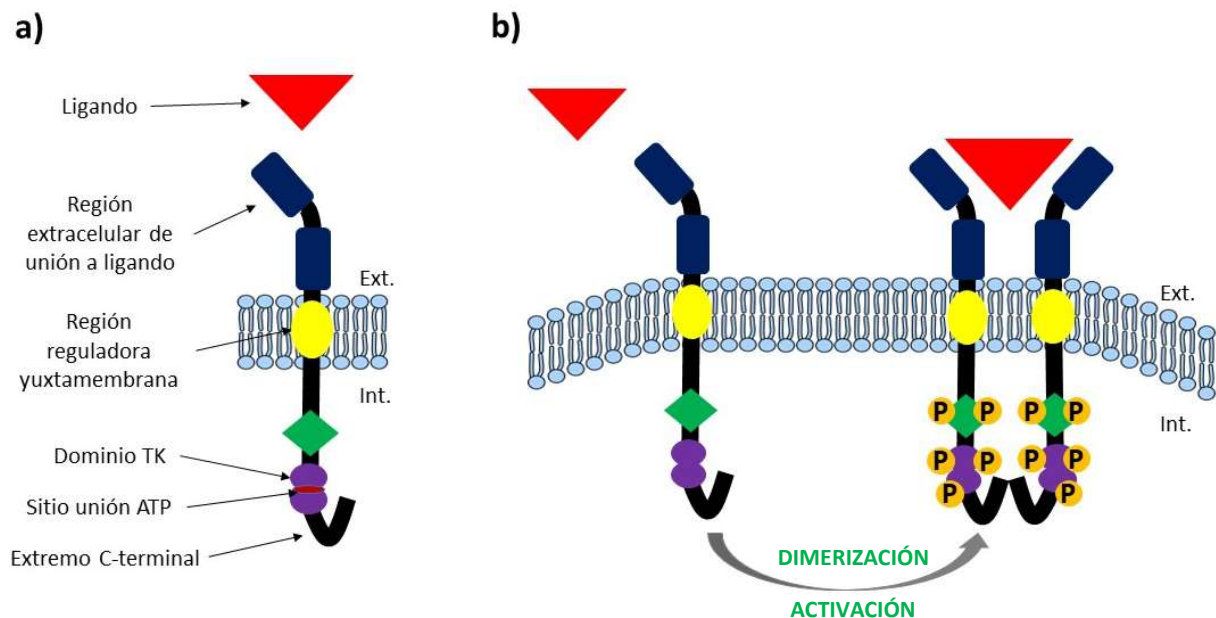


Figura 1. (a) Estructura de un receptor tirosín quinasa. El dominio TK es bilobulado y el sitio de unión del ATP se encuentra entre ambos lóbulos. La región extracelular de unión al ligando presenta un extremo N-terminal. (b) Proceso de activación del receptor tirosín quinasa. La unión del ligando provoca la estabilización del dímero, forma activa del RTK, y activa los dominios tirosín quinasa. Los círculos (P) simbolizan los residuos de tirosina fosforilados. Figura de elaboración propia.

Los RTKs activos presentan numerosos residuos de tirosina fosforilados que sirven como punto de anclaje para proteínas intracelulares relacionadas con diferentes vías de señalización y transducción de señales. Estas proteínas presentan dominios de unión a residuos de tirosina fosforilados como PTB (Dominio de unión a fosfotirosinas) o SH2 (Dominio de homología Src 2). Cuando estas proteínas se unen a RTKs forman complejos de señalización transitorios, encargados de activar diferentes cascadas de señalización y respuestas celulares relacionadas con la proliferación, crecimiento, regulación genómica, regulación metabólica, supervivencia o migración (Smidova *et al.*, 2021). De esta forma, los RTKs activan fundamentalmente cuatro vías o rutas de señalización intracelular: PI3K/Akt (Vía de la fosfatidilinositol 3-quinasa), RAS/MAPK (MAP quinasas), JAK/STAT (Janus quinasas/ Transductor de señal y activador transcripcional) y PLC/PKC (Fosfolipasa C/Proteína quinasa C) (Lemmon y Schlessinger, 2010; Pottier *et al.*, 2020). A través de estas rutas se desencadenan respuestas biológicas como la activación celular, la supervivencia o la permeabilización vascular (Gotink y Verheul, 2010).

1.1.2. RTKs y etiología oncológica

Las TKs, y especialmente los RTKs, se encuentran involucradas en la modulación de vías de señalización relacionadas con la proliferación, viabilidad, motilidad, migración y diferenciación celular, como ya hemos explicado previamente. Cuando se producen mutaciones que afectan a estas familias de receptores pueden producirse desregulaciones relacionadas con el desarrollo de diversas enfermedades como diabetes, inflamación crónica, trastornos óseos y diferentes tipos de cánceres (Lemmon y Schlessinger, 2010).

Las mutaciones en los RTKs provocan que los receptores se activen de forma continua, independientemente de la presencia del ligando (mutaciones de ganancia de función), o que pierdan la capacidad de activarse (mutaciones de pérdida de función). Cuando aparecen mutaciones de pérdida de función se pierde la señalización celular, mientras que si aparecen mutaciones de ganancia de función se obtiene una señalización celular continua y descontrolada. La mayoría de las mutaciones afectan a la secuencia génica que codifica para las distintas partes de los RTKs. No obstante, estas alteraciones no solo tienen origen genético, ya que también se pueden dar por translocaciones cromosómicas o efectos autocrinos. En cualquier caso, las alteraciones de los receptores conducen en muchos casos al desarrollo de tumores, convirtiéndose en la familia de genes que aparece alterada con mayor frecuencia en las neoplasias (Dervisis y Klahn, 2016).

Los RTKs, y en general todas las proteínas quinasas (PKs), cuando se encuentran en células sanas actúan como supresores tumorales o protooncogenes, genes no alterados que se convierten en oncogenes tras su mutación, participando en el desarrollo y progresión de la neoplasia. Sin embargo, cuando estas proteínas aparecen mutadas promueven la carcinogénesis y el mantenimiento del cáncer (Smidova *et al.*, 2021). Esto lo consiguen mediante varios mecanismos como la activación de vías de proliferación, la inestabilidad genómica, la reducción en la detección y respuesta al daño del ADN, la inactivación de las vías apoptóticas, la inducción de la angiogénesis o el aumento de la movilidad celular (Dervisis y Klahn, 2016).

1.2. Inhibidores de RTKs

Durante las últimas décadas, se han estudiado en profundidad los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo y progresión tumoral con el fin de encontrar dianas terapéuticas que permitan tratar el cáncer de manera eficaz. Debido al papel que tienen los RTKs en el desarrollo de los cánceres, se han estudiado ampliamente estas moléculas como posibles dianas para los tratamientos oncológicos. Desde el año 2001, se han empleado de forma exitosa inhibidores tirosín quinasa (TKIs), concretamente inhibidores de los receptores tirosín quinasa (RTKIs), para diversos tratamientos de esta enfermedad (Pottier *et al.*, 2020).

El bloqueo de la actividad proteína quinasa en los RTKs podría detener, o al menos frenar, la progresión del cáncer, ya que no se activarían las vías de señalización que favorecen el crecimiento y mantenimiento del tumor (Dervisis y Klahn, 2016). Con esta hipótesis se han desarrollado fármacos basados en dos tipos de moléculas:

- Fármacos basados en anticuerpos específicos que se unen al ligando del receptor o a la región extracelular a la que se uniría el ligando, logrando en ambos casos que no se active el dominio TK y, por tanto, que no se activen vías de señalización intracelular.
- Fármacos basados en moléculas de bajo peso molecular que actúan como receptor antagonista del ATP u ocupan el sitio activo de los dominios PK, evitando la autofosforilación, dimerización y activación de las vías de transducción de señales. A este grupo pertenecen los TKIs (Dervisis y Klahn, 2016; Pottier *et al.*, 2020; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020; Smidova *et al.*, 2021).

Los TKIs tienen la capacidad de atravesar la membrana y actuar sobre algunas NRTKs. Así mismo, actúan directamente sobre los dominios TK, por lo que pueden hacer frente a mutaciones que hiperactiven los dominios quinasa. Esto les aporta mayores ventajas frente a

los anticuerpos específicos que se unen a los dominios extracelulares (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

El descubrimiento y desarrollo de estos inhibidores ha abierto un nuevo campo en investigación, tanto en el tratamiento del cáncer como en el tratamiento de otras enfermedades relacionadas con TKs. Actualmente, según datos de la FDA (*Food and Drugs Administration*), existen 117 TKIs, de los cuales 39 se encuentran en ensayos de fase IV y ya han sido aprobados por la FDA (Pottier *et al.*, 2020; Smidova *et al.*, 2021). Los RTKIs son una gran familia perteneciente al grupo de los TKIs. Actúan sobre el centro activo de los dominios quinasa, impidiendo la activación y fosforilación de los receptores y de las proteínas intracelulares implicadas en las vías de desarrollo y progresión tumoral (Pottier *et al.*, 2020).

Los TKIs se clasifican en función de la región a la que se unen en las TKs y en función de la reversibilidad de la unión. Según este criterio podemos diferenciar 5 tipos de TKIs:

- Tipo I: Compiten con el ATP uniéndose reversiblemente al sitio de unión del ATP en la conformación activa del dominio TK. La unión impide la activación del receptor y la fosforilación de proteínas intracelulares.
- Tipo II: Se unen de manera reversible en una región adyacente al sitio de unión del ATP. En este caso se unen a la quinasa inactiva e impide que pase a la conformación activa. Generalmente no son muy selectivos.
- Tipo III: Funcionan como inhibidores alostéricos. Se unen reversiblemente a la proteína en un sitio alostérico e inhiben la actividad quinasa. Son inhibidores altamente selectivos.
- Tipo IV: Se unen reversiblemente al sitio de unión del sustrato en el dominio TK. Actualmente este tipo de TKIs aún está en desarrollo.
- Tipo V: Se unen de manera irreversible al sitio activo del dominio TK, impidiendo que fosforile sus sustratos. Presentan la ventaja de que son muy potentes y reducen los efectos no deseados (*off-target*) (Dervisis y Klahn, 2016; Pottier *et al.*, 2020).

Con el empleo de TKIs se han obtenido buenos resultados en varios tipos de cánceres, entre ellos la leucemia o el cáncer de pulmón (Dervisis y Klahn, 2016; Pottier *et al.*, 2020; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020). Además, está permitiendo la transición desde la quimioterapia citotóxica clásica hacia el empleo de terapias moleculares dirigidas, aumentando el número de pacientes que sobreviven a la enfermedad (Dervisis y Klahn, 2016).

A pesar de la eficacia mostrada por estos fármacos, se ha visto que la utilización de TKIs puede generar resistencia después de varios meses de tratamiento, de modo que los inhibidores dejan de tener efecto y remite su acción antioncogénica (Dervisis y Klahn, 2016; Qin *et al.*, 2019; Pottier *et al.*, 2020; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020; Smidova *et al.*, 2021). Esta resistencia frente a TKIs puede estar inducida por factores intrínsecos o extrínsecos, como la amplificación de genes secundarios, nuevas mutaciones o *splicing* alternativo en los genes que codifican para los dominios TK, activación de rutas oncogénicas alternativas, cambios estructurales en los dominios TK, cambios en el metabolismo de la glucosa o inducciones paracrinas y autocrinas (Pottier *et al.*, 2020; Smidova *et al.*, 2021). Esto ha llevado al desarrollo de terapias con TKIs de primera y segunda línea. En los casos en los que el paciente adquiere resistencia frente a los TKIs administrados, se emplean TKIs de segunda línea para intentar frenar la progresión del tumor (Qin *et al.*, 2019; Pottier *et al.*, 2020).

En resumen, se ha observado que los RTKs pueden ser una buena diana para el tratamiento del cáncer. Por ello, actualmente el campo de investigación de los TKIs está en auge y existen tratamientos muy prometedores para esta enfermedad. No obstante, es necesario continuar con las investigaciones en este campo para lograr en el futuro aumentar la eficiencia y eficacia de estos tratamientos y para solventar problemas como el desarrollo de resistencias a estos fármacos.

A lo largo de este trabajo se debatirá el potencial de los TKIs en el tratamiento del cáncer hepático. Así mismo, se analizarán otros enfoques como la combinación de varios TKIs o la utilización conjunta de éstos con tratamientos quimioterápicos o inmunoterápicos clásicos, estudiando también los posibles problemas que puedan surgir a la hora de aplicar estos tratamientos.

2. Hepatocarcinoma

El cáncer hepático se ha convertido en las últimas décadas en uno de los principales problemas de salud pública en el área de la oncología. El hepatocarcinoma o carcinoma hepatocelular (CHC) constituye el tipo de neoplasia más común dentro del cáncer hepático primario, apareciendo en aproximadamente el 75-85% de los casos (Singal *et al.*, 2020). En el año 2020, este tipo de neoplasia maligna se convirtió en el quinto cáncer con mayor incidencia y el tercero con mayor mortalidad, provocando 830.180 muertes alrededor de todo el mundo. El 76% de los afectados por esta patología fueron varones, de los cuales el 91% fallecieron, convirtiendo al cáncer hepático en el segundo con mayor mortalidad en este sexo. En el caso

de las mujeres afectadas, fallecieron el 92%, siendo este cáncer el sexto en cuanto a número de muertes dentro del sexo femenino (*Cancer Today*, 2020). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, siguiendo la tendencia actual, la incidencia y mortalidad del cáncer hepático continuará aumentando en los próximos años (Villanueva, 2019).

2.1. Incidencia y factores de riesgo

La incidencia de CHC se distribuye de forma heterogénea en el mundo debido a la distinta prevalencia de los factores de riesgo. La mayor tasa de incidencia se localiza en el Sudeste Asiático, especialmente en China y Mongolia, y en determinadas regiones del África subsahariana. No obstante, el sur de Europa y el continente americano, especialmente América Central, también son zonas ampliamente afectadas (*Cancer Today*, 2020) (**Figura 2**).

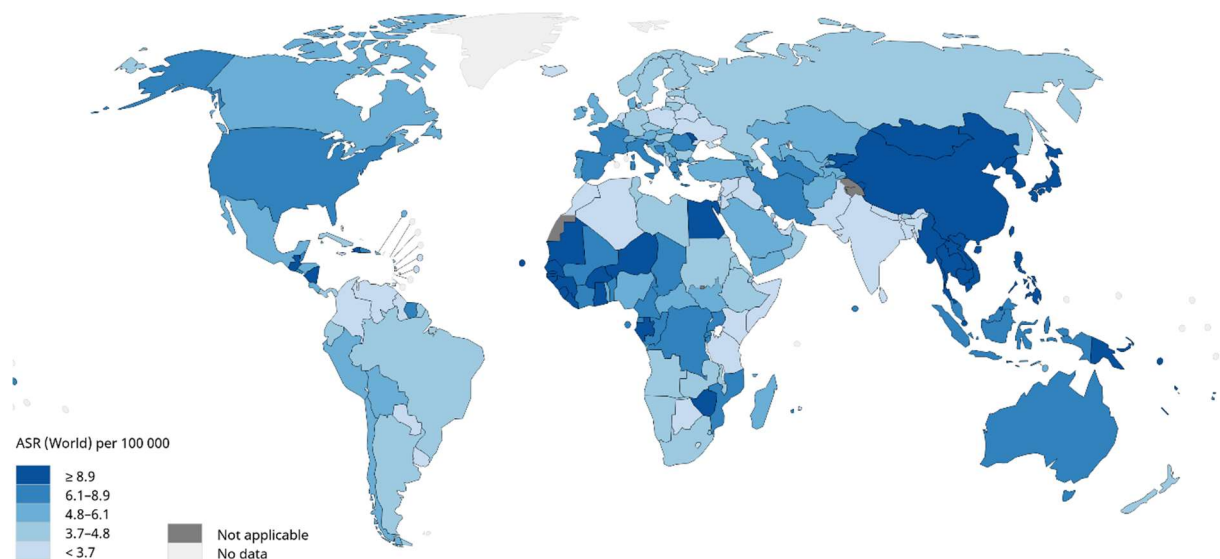


Figura 2. Tasas de incidencia de CHC distribuidas geográficamente en todo el mundo, actualizadas al año 2020. Figura obtenida con GLOBOCAN 2020 *Graph production: IARC* (<http://gco.iarc.fr/today>) *World Health Organization*.

Los factores de riesgo que influyen en el desarrollo de CHC son numerosos y diversos, siendo uno de los principales factores la infección por los virus de la hepatitis B (VHB) y C (VHC). VHB y VHC son virus cuyo genoma está formado por ADN y ARN, respectivamente. En las áreas del Sudeste Asiático y el África subsahariana hay una alta incidencia de VHB, mientras que en Europa, Norteamérica y determinadas zonas del norte de África predominan las infecciones por VHC (Llovet *et al.*, 2016). Estos virus pueden dar lugar a infecciones crónicas que desembocan en la hepatitis crónica de origen viral, patología necro-inflamatoria que puede provocar el desarrollo de fibrosis y, en un estado avanzado, cirrosis. Ante este cuadro

clínico, los portadores de VHB y VHC tienen entre 10-25% más de probabilidades de desarrollar CHC (Balogh *et al.*, 2016). Por este motivo, la incidencia mundial de CHC es paralela a la de la hepatitis viral crónica. No obstante, se ha observado que las campañas de vacunación neonatal contra VHB en el Sudeste Asiático y el desarrollo de nuevos tratamientos y terapias antivirales frente a VHC han logrado reducir la incidencia del CHC con etiología viral (Balogh *et al.*, 2016; Singal *et al.*, 2020).

El consumo excesivo de alcohol es otro de los principales factores de riesgo para el desarrollo de CHC. Este hábito no saludable es el principal factor que provoca la aparición de cirrosis en los países desarrollados, especialmente el sur de Europa y Norteamérica, aumentando también la probabilidad de desarrollar CHC. Así mismo, se ha descubierto que este consumo excesivo tiene un efecto sinérgico con la hepatitis crónica viral, incrementando más las posibilidades de padecer CHC. Actualmente, se estima que en Europa el 40-50% de los casos de CHC se deben al consumo abusivo de alcohol (Balogh *et al.*, 2016).

Existen otros factores de riesgo que han ido ganando relevancia en los últimos años. La enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) pueden contribuir al desarrollo de cirrosis, y en última instancia, CHC. Los pacientes con NAFLD presentan menor riesgo de padecer CHC que aquellos que padecen NASH. Sin embargo, NAFLD es una de las causas principales del desarrollo de CHC debido al gran número de personas que padecen esta enfermedad (Singal *et al.*, 2020). Otros factores etiológicos importantes son la diabetes tipo II, la obesidad y otros trastornos relacionados con el síndrome metabólico. Se ha visto que estos trastornos metabólicos aumentan la probabilidad de desarrollar CHC de forma independiente, pero si aparecen combinadas con NAFLD y NASH estas probabilidades se incrementan (Balogh *et al.*, 2016; Llovet *et al.*, 2016).

Algunos otros factores de riesgo menos comunes son la hepatitis autoinmune, la hemocromatosis o el déficit en α 1-antitripsina. Estos trastornos provocan fibrosis y/o cirrosis, pudiendo desencadenar el desarrollo de CHC. Además, existen algunos factores de riesgo ambientales como la aflatoxina B1. Esta toxina, producida por hongos del género *Aspergillus*, puede contaminar productos alimentarios y es importante en el desarrollo de CHC en zonas de Asia y África. Tiene un efecto sinérgico con la infección de VHB, provocando mutaciones en el gen *TP53*. Otro factor que también aumenta las probabilidades de desarrollar CHC y está muy presente en la sociedad es el tabaco (Balogh *et al.*, 2016; Llovet *et al.*, 2016; Singal *et al.*, 2020).

En resumen, la etiología del CHC es compleja y la aparición de este tipo de cáncer depende de muchos factores. Igualmente, el desarrollo de la neoplasia puede derivar de patologías hepáticas previas.

2.2. Carcinogénesis hepática

El desarrollo de CHC tiene lugar de forma paulatina en un proceso conocido como hepatocarcinogénesis. Este proceso puede durar décadas y consiste en la transformación de hepatocitos sanos en células tumorales. En la mayoría de los casos, aparecen cuadros cirróticos previos que conducen al CHC (Kanda *et al.*, 2019).

Desde el punto de vista anatómico y/o fisiológico se produce una transición desde el hígado sano al estado cirrótico del órgano. Los factores de riesgo comentados anteriormente provocan un daño que induce la muerte de hepatocitos. Esta necrosis da lugar a una respuesta inflamatoria en el tejido que estimula la producción de componentes de la matriz extracelular (MEC). Como consecuencia aparece la fibrosis hepática, caracterizada por la deposición de colágeno (entre otros componentes de la MEC) sobre el parénquima hepático, y la angiogénesis. Si este proceso no se revierte aparece el estado cirrótico, que es irreversible y puede dar lugar a un fallo hepático (Birgani y Carloni, 2017). En el órgano cirrótico aparecen nódulos de hepatocitos que se han regenerado, separados por cicatrices de colágeno. Estos nódulos son los que podrán dar lugar al CHC (Llovet *et al.*, 2016).

Desde el punto de vista molecular, el CHC aparece tras la acumulación de una serie de mutaciones o alteraciones en el ADN celular. En cada nódulo se acumulan una media de 40 alteraciones somáticas que contribuyen a la proliferación, invasión, supervivencia, metástasis o evasión inmunitaria de las células tumorales (Llovet *et al.*, 2016). Por este motivo, cada nódulo presenta distintas combinaciones de mutaciones epigenéticas y genéticas, convirtiéndose en tumores con gran variabilidad. Dentro de todas las mutaciones presentes en este tipo de tumores, algunas aparecen con una mayor frecuencia, considerándose las conductoras del desarrollo y progresión tumoral. Una de las alteraciones que aparece con más frecuencia en estos tumores es la sobreexpresión de la telomerasa, enzima que le permite a la célula tumoral eludir la senescencia para promover la carcinogénesis. Esta sobreexpresión se debe a dos mutaciones en el promotor del gen de la telomerasa transcriptasa reversa (TERT). En esta región es común que se produzcan inserciones de material genético viral durante la infección del VHB, promoviendo también la sobreexpresión de la telomerasa (Llovet *et al.*, 2016; Villanueva, 2019).

Otras mutaciones, que también aparecen con gran frecuencia. son las que provocan la inactivación de las rutas de activación p53/Retinoblastoma, componentes que tienen un papel fundamental en la apoptosis. La aflatoxina B1 parece ser uno de los principales factores ambientales que afecta a estas rutas (Balogh *et al.*, 2016; Kanda *et al.*, 2019). En el CHC también surgen alteraciones en el estado y en las vías de remodelación de la cromatina, junto con alteraciones epigenéticas que afectan a las histonas y a la unión de estas con el ADN. Así mismo, en estos tumores las rutas Wnt/ β -catenina, RAS/MAPK y PI3K/mTOR también se encuentran alteradas, en muchos casos debido a mutaciones en RTKs, de modo que se activan dichas rutas durante el desarrollo y progresión de este tipo de tumores (Ghoury *et al.*, 2017; Kanda *et al.*, 2019).

2.3. Diagnóstico y tratamiento

Debido a la gran variabilidad en los tumores de este tipo de cáncer, el diagnóstico, tratamiento y tasa de supervivencia dependen del estadio y de las características específicas de cada paciente. Actualmente, existen una serie de sistemas basados en algoritmos que tienen en cuenta la variabilidad biológica de los tumores y de los pacientes a la hora de determinar posibles terapias o líneas de actuación para el tratamiento de este tipo de cáncer. El algoritmo o sistema que más se emplea, recomendado por la Organización Europea para la Investigación en el Tratamiento del Cáncer (EORTC), la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL) y la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades del Hígado (AASLD), es el *Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC)* (**Figura 3**). BCLC tiene en cuenta variables como el tamaño del tumor, número de nódulos, la invasión vascular, el grado de metástasis o la salud y funcionalidad hepática para clasificar los tumores en 5 grupos diferentes (Trojan *et al.*, 2016).

Sobre estos grupos se aplican distintos tratamientos o acciones para intentar detener la progresión de la enfermedad, tal y como se observa en la **Figura 3**. En estadios tempranos o muy tempranos (BCLC-A y -0) se suele recurrir a la eliminación del tumor mediante intervención quirúrgica, trasplante o ablación con microondas o radiofrecuencia, debido a que el paciente puede recuperar la funcionalidad hepática tras la intervención. En estadios intermedios (BCLC-B) se emplea la quimioembolización transarterial (TACE) o radioembolización porque la cirugía no asegura la eliminación total del tumor. En estadios avanzados (BCLC-C) ya no es posible la extirpación del tumor, por lo que se recurre a tratamientos sistémicos con TKIs de primera línea, como el sorafenib o lenvatinib, o de segunda línea si fuesen necesarios. En el estadio BCLC-D ya no sirven los tratamientos actuales para

detener la progresión de la enfermedad, por lo que solo se pueden administrar tratamientos y cuidados paliativos (Trojan *et al.*, 2016; Villanueva, 2019) (**Figura 3**).

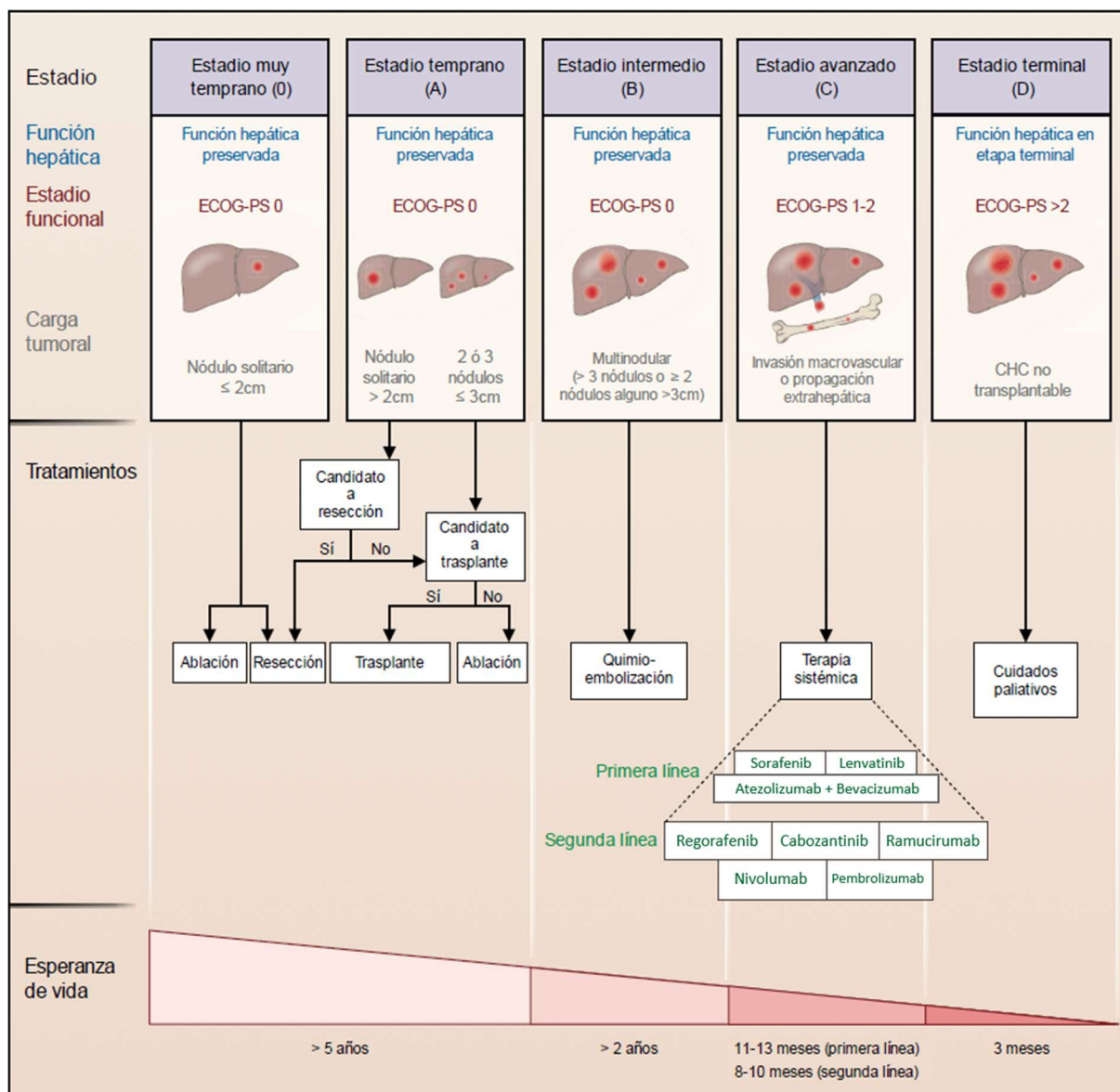


Figura 3. Algoritmo para el diagnóstico clínico del CHC basado en *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC). Se señala, de arriba hacia abajo, el estadio del CHC según el algoritmo BCLC, la función hepática en ese estadio, el estadio funcional según la guía EASL, la carga tumoral, los tratamientos asociados a cada estadio del CHC y la esperanza de vida. Figura modificada de (Villanueva, 2019).

OBJETIVOS

Dada las bajas tasas de supervivencia observadas en pacientes con CHC y la escasez de tratamientos eficaces contra esta enfermedad, el papel que juegan los RTKs y sus inhibidores en el desarrollo y progresión tumoral los ha convertido en una potencial diana para el desarrollo de nuevas terapias contra este tumor.

En base a esto, el objetivo general de este trabajo es dilucidar el papel que juegan las proteínas tirosín quinasa en el desarrollo y progresión del CHC y estudiar cómo los inhibidores de estas proteínas podrían ayudar a frenar la progresión de este tipo de neoplasia. Para dicho fin se propusieron los siguientes objetivos específicos:

- Determinar los mecanismos moleculares que implican a las proteínas tirosín quinasa en el desarrollo del cáncer, especialmente en el CHC.
- Analizar qué efectos específicos tienen los inhibidores tirosín quinasa sobre sus dianas y los efectos que ejercen sobre el CHC.
- Estudiar las posibles aplicaciones clínicas de los inhibidores tirosín quinasa en el tratamiento del CHC, especialmente en estadios avanzados donde los tratamientos clásicos no son eficaces.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente trabajo se llevó a cabo una revisión exhaustiva de la literatura reciente. En primer lugar, se empleó el sistema PICOC (*Population, Intervention, Comparison, Outcomes, Context*) (Centre for reviews and dissemination, 2009) para concretar el ámbito de estudio y para formular la pregunta de investigación. Posteriormente se realizó la búsqueda bibliográfica.

Definición de la pregunta de investigación con el sistema PICOC.

El método PICOC es ampliamente empleado en ciencias de la salud para definir o formular preguntas de investigación. La formulación en este trabajo fue la siguiente:

- *Population* (Población): Pacientes afectados de CHC.
- *Intervention* (Intervención): Estudiar el papel que presentan los inhibidores tirosín quinasa en el desarrollo, progresión y tratamiento del CHC.
- *Comparison* (Comparación): Analizar distintas fuentes bibliográficas que permitan estudiar los inhibidores tirosín quinasa y el CHC. Así mismo, comparar y relacionar ambos elementos apoyándose en la literatura reciente.
- *Outcomes* (Resultados): Conocer el papel que presentan los inhibidores tirosín quinasa en el CHC y dilucidar si se puede aprovechar la relación entre ambos elementos con fines terapéuticos y/o preventivos.
- *Context* (Contexto): Selección de grupos de investigación biomédica, básica o clínica, centrados en el campo de los inhibidores tirosín quinasa, especialmente los implicados en el CHC.

Búsqueda bibliográfica.

Para la búsqueda de información se empleó como motor de búsqueda la página web de PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), parte de la *US National Library of Medicine* (NLM), desarrollada por *National Center of Biotechnology Information* (NCBI) y perteneciente a *National Institutes of Health* (NIH).

Empleando esta herramienta se realizaron tres búsquedas de información. Las dos primeras búsquedas se realizaron para obtener información general sobre los dos principales elementos estudiados: TKIs y CHC. La tercera búsqueda se realizó para encontrar información relativa a estudios y ensayos donde se relacionasen ambos elementos, es decir, que se centraran en la conexión específica de los TKIs con el CHC.

En la primera búsqueda se realizó una búsqueda avanzada sobre los TKIs. Con la ayuda de la herramienta web se buscaron documentos con los términos “*Tyrosine kinase inhibitor*” o “*TKI*” y “*Cancer*” presentes en el título, obteniendo 1.226 resultados. Como filtros adicionales se fijaron los siguientes criterios de inclusión: Se muestren únicamente revisiones (*review*), escritos en idioma inglés (*English*) y durante el período temporal comprendido dentro de los últimos 5 años (*5 years*). De este modo se redujeron los resultados a 85. Estos se seleccionaron manualmente en función del título y el contenido del resumen (*Abstract*), eligiendo finalmente 5 artículos con relevancia científica donde se trataba como tema central los TKIs y su papel en cáncer. Así mismo, se seleccionaron otros 3 artículos más antiguos debido a su elevado índice de citas.

En la segunda búsqueda se realizó una búsqueda avanzada sobre el hepatocarcinoma. Con la ayuda de la herramienta web se buscaron documentos con los términos “*HCC*” o “*Hepatocellular carcinoma*” presentes en el título, obteniendo 23.548 resultados. Como filtros adicionales se fijaron los siguientes criterios de inclusión: Se muestren únicamente revisiones (*review*), escritos en idioma inglés (*English*), información relativa a humanos (*Humans*) y durante el período temporal comprendido dentro de los últimos 5 años (*5 years*). De este modo se redujeron los resultados a 1.263. Tras un análisis superficial de los resultados y en base a su relevancia en el ámbito científico se seleccionaron finalmente 7 artículos.

Para la tercera búsqueda se buscaron documentos con los términos “*Tyrosine kinase inhibitor*” y “*HCC*”, “*Hepatocellular*”, “*Liver*” o “*Hepatocarcinogenesis*” presentes en el título, obteniendo 138 artículos. Tras aplicar como criterio de inclusión una antigüedad menor a 10 años, el número de resultados se redujo a 89. Estos se seleccionaron manualmente en función

del título y el contenido del resumen (*Abstract*), excluyéndose aquellos que no se centrasen en el CHC o en factores relacionados con este tipo de cáncer. Finalmente se seleccionaron 28 artículos.

En la **Tabla 1** se recogen las palabras clave empleadas para cada búsqueda, así como la secuencia final que se introdujo en la barra del buscador. En todas las búsquedas se añadieron los términos “*NOT erratum*”, un criterio de exclusión que elimina los artículos retractados, erróneos o de medios que pueden ser corregidos.

Tabla 1. Se muestran los términos o palabras clave empleadas (segunda columna) y la secuencia introducida en el buscador (tercera columna) para cada una de las búsquedas (primera columna).

| | Términos empleados | Secuencia introducida en el motor de búsqueda |
|---|--|---|
| Búsqueda general sobre TKIs | - <i>Tyrosine kinase inhibitor</i> - <i>TKI</i> - <i>Cancer</i> | ((tyrosine kinase inhibitor[Title]) OR (TKI[Title])) AND (cancer[Title]) NOT erratum |
| Búsqueda general sobre CHC | - <i>Hepatocellular carcinoma</i> - <i>HCC</i> | (HCC[Title]) OR (Hepatocellular carcinoma[Title]) NOT erratum |
| Búsqueda sobre relación entre TKIs y CHC | - <i>Tyrosine kinase inhibitor</i> - <i>HCC</i> - <i>Hepatocellular</i> - <i>Liver</i> - <i>Hepatocarcinogenesis</i> | (tyrosine kinase inhibitor[Title]) AND ((hepatocellular[Title]) OR (liver[Title]) OR (HCC[Title]) OR (hepatocarcinogenesis[Title])) NOT erratum |

Finalmente, se emplearon 43 artículos. Se intentó emplear aquellos publicados en revistas con mayor índice de impacto y con un mayor número de citaciones, cumpliendo siempre con los criterios de inclusión y exclusión previamente fijados.

RESULTADOS

1. Papel de los RTKs en la célula

Existen alrededor de 60 RTKs distintos que participan en numerosas vías de señalización y transducción de señales dentro de la célula (Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020). A través de estas vías coordinan distintas funciones celulares como la proliferación, la apoptosis, la diferenciación o la migración. Por este motivo, estos receptores y las vías de transducción de señales en las que están implicados requieren un estricto control (Lemmon y Schlessinger, 2010; Du y Lovly, 2018; Pottier *et al.*, 2020). No obstante, cuando se produce una desregulación

o alguna mutación en los RTKs puede desencadenarse una situación patológica por la inhibición o sobreactivación de estos receptores. Esto es lo que ocurre en numerosos tipos de cánceres, entre ellos el CHC (Lemmon y Schlessinger, 2010; Du y Lovly, 2018; Pottier *et al.*, 2020).

1.1. RTKs en condiciones fisiológicas

Los RTKs son receptores específicos de ligando, es decir, cada una de las subfamilias reconoce ligandos específicos. La unión del receptor al ligando induce la dimerización y/u oligomerización de los receptores dando lugar a la forma activa del receptor. Esto induce la trans-fosforilación por los dominios TK, generándose residuos de tirosina fosforilados que servirán de punto anclaje para diversas proteínas encargadas de iniciar vías de transducción de señales relacionadas con numerosos procesos celulares (Poliaková *et al.*, 2018; Dimri y Satyanarayana, 2020; Pottier *et al.*, 2020; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

En función de los ligandos que estimulen a la célula se activarán unos u otros receptores tirosín quinasa, desencadenando distintas respuestas en la célula. En la **Tabla 2** se muestran los principales RTKs abordados en este trabajo (Lemmon y Schlessinger, 2010; Huynh *et al.*, 2012; Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020).

Tras la activación de los RTKs por la unión de su ligando, las proteínas que participan en el inicio de las vías de señalización interaccionan con los residuos de tirosina fosforilados gracias a que presentan dominios SH2 o PTB. Estas proteínas, conocidas como proteínas señal, reclutan a otras formando complejos de transducción de señales que activan diversas vías de señalización. Las principales rutas de señalización activadas por los receptores RTK son las vías PI3K/Akt, RAS/MAPK, JAK/STAT y PLC/PKC. Cada una de estas rutas está asociada a determinados tipos de RTKs y desencadena distintos procesos celulares (**Figura 4**). Mediante la activación de estas rutas, los RTKs pueden estimular las respuestas o funciones mencionadas en la **Tabla 2** (Hartmann *et al.*, 2009; Huynh *et al.*, 2012; Du y Lovly, 2018; Pottier *et al.*, 2020).

Para asegurar la homeostasis y la correcta regulación de los procesos celulares mediados por estos receptores se establecen bucles de retroalimentación positiva y negativa para regular la activación y acción de los receptores, controlando así las vías de señalización. Estos *feedback* controlan la expresión de receptores, la producción de proteínas inhibidoras, el secuestro del ligando, la inactivación de las proteínas señal, la inactivación de receptores y la translocación de estos a espacios celulares donde no puedan interaccionar con el ligando. Estos procesos

regulatorios se pueden llevar a cabo mediante distintos mecanismos celulares, pero el objetivo final de todos es controlar la activación de los RTKs y la transducción de señales mediada por estos (Lemmon y Schlessinger, 2010; Huynh *et al.*, 2012; Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020).

Tabla 2. Principales RTKs abordados en el presente trabajo. Se muestran los ligandos de cada grupo de receptores y las principales funciones celulares en las que intervienen dichos receptores.

| Ligando | Receptor | Funciones principales |
|---|--|---|
| EGF (Factor de crecimiento endotelial) | EGFR (HER1-4) (Receptor de EGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula la supervivencia, el crecimiento y la proliferación. - Estimula la diferenciación de diversos tipos celulares. |
| IGF (Factor de crecimiento similar a insulina) | IGF-1R (Receptor de IGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula el crecimiento y la supervivencia. |
| PDGF (Factor de crecimiento derivado de plaquetas) | PDGFRα, PDGFRβ (Receptor de PDGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula el crecimiento, la supervivencia, la proliferación y la migración celular. |
| FGF (Factor de crecimiento de fibroblastos) | FGFR(1-4) (Receptor de FGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula la proliferación de varios tipos celulares. - Inhibe la diferenciación de ciertos tipos celulares. |
| VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular) | VEGFR(1-3) (Receptor de VEGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula la angiogénesis. |
| HGF (Factor de crecimiento de hepatocitos) | HGFR (c-Met) (Receptor de HGF) | <ul style="list-style-type: none"> - Estimula la proliferación, la migración, la supervivencia y la angiogénesis. - Juega un papel importante en la morfogénesis celular. |

En resumen, la activación de los RTKs da lugar a la activación de distintas cascadas de señalización que regulan procesos celulares básicos como la proliferación, el crecimiento, la migración o la diferenciación celular. Así mismo, la activación de estos receptores es un proceso regulado que asegura la homeostasis en condiciones celulares fisiológicas.

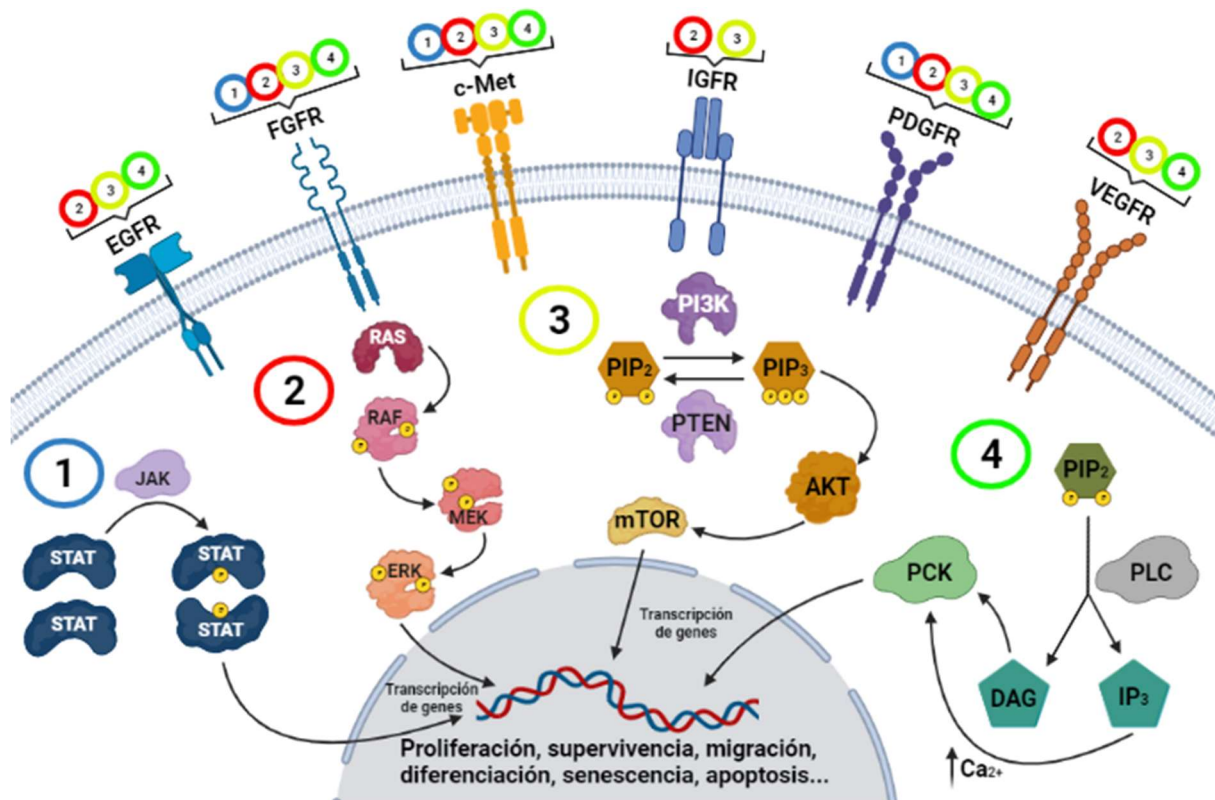


Figura 4. Esquema de las principales rutas activadas por RTKs. Se indican los distintos tipos de RTKs abordados en el presente estudio y las vías de señalización en las que intervienen los mismos. **(1)** Vía JAK/STAT: Cuando el ligando activa el receptor, se activa una proteína JAK que fosforila (P) proteínas STAT. Las STAT fosforiladas dimerizan y se trasladan al núcleo donde actúan como factores de transcripción, promoviendo procesos de proliferación, apoptosis, diferenciación y supervivencia. **(2)** Vía RAS/MAPK: La activación del receptor provoca la activación de Ras. Esta activa a Raf, la cual inicia una cascada de fosforilación que termina con la activación de ERK. Esta última activa a los activadores transcripcionales AP-1 que participan en procesos de regulación del ciclo celular y de la proliferación. **(3)** Vía PI3K/AKT: PI3K fosforila a fosfatidilinositol bifosfato (PIP₂) dando lugar a fosfatidilinositol trifosfato (PIP₃). PTEN lleva a cabo la reacción inversa. PIP₃ activa a Akt y ésta activa el complejo de factores transcripcionales TOR. Esta vía participa en procesos de quiescencia, proliferación y resistencia a apoptosis. **(4)** Vía PLC/PKC: La activación del receptor activa la fosfolipasa C (PLC), que escinde PIP₂ en diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP₃). Ambos productos contribuyen a la activación de la proteína quinasa C (PKC). Esta vía está relacionada con procesos de migración y secreción, entre otros. Figura de elaboración propia.

1.2. RTKs en estados oncogénicos

La regulación de los RTKs es necesaria para mantener un equilibrio entre procesos de crecimiento, proliferación y muerte celular. Esto se logra mediante diversos mecanismos mencionados en el apartado anterior y permite que la célula mantenga su funcionamiento en condiciones fisiológicas. Cuando estos mecanismos reguladores fallan y aparece una actividad descontrolada de los RTKs se pueden desencadenar procesos que conducen a enfermedades, entre ellas muchos tipos de cánceres (de Rosamel y Blanc, 2017; Smidova *et al.*, 2021).

En la mayoría de los cánceres conocidos los genes que codifican para los RTKs actúan como protooncogenes, es decir, genes que contribuyen al desarrollo y progresión tumoral

cuando aparecen mutados o alterados (Stransky *et al.*, 2014). Cuando aparecen estas mutaciones o alteraciones generalmente se induce una activación constitutiva de los RTKs, es decir, los receptores se mantienen activados, aún en ausencia de su ligando, provocando una cascada de señalización continua. Esto conduce a procesos celulares de proliferación, crecimiento, supervivencia e inmortalidad descontrolados, característicos de los estados oncogénicos. (Lemmon y Schlessinger, 2010; Du y Lovly, 2018; Pottier *et al.*, 2020). No obstante, las desregulaciones de los RTKs no afectan exclusivamente a los procesos que tienen lugar en las células tumorales, sino que también se dan en otras células del microambiente tumoral. Las desregulaciones de los RTKs en este microambiente son muy importantes ya que desencadenan, junto con alteraciones de otras vías de señalización ajenas a estos receptores, fenómenos de angiogénesis, resistencia a la citotoxicidad, evasión inmunológica, migración y liberación de factores proinflamatorios (Dimri y Satyanarayana, 2020; Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020).

Las principales mutaciones o alteraciones que conducen a la desregulación de los RTKs y al desarrollo y progresión tumoral son las mutaciones de ganancia de función, la sobreexpresión genómica, los reordenamientos cromosómicos, la duplicación de los dominios quinasa y la activación autocrina (Du y Lovly, 2018) (**Figura 5**).

1.2.1. Mutaciones de ganancia de función

En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre las formas libres (inactivas) de los receptores y las formas diméricas (activas) de estos. Dicho equilibrio permite regular la señalización mediada por estos receptores (Pottier *et al.*, 2020; Smidova *et al.*, 2021). En muchos tipos de cáncer se han detectado mutaciones en distintos dominios de los RTKs que provocan una ganancia de función, es decir, que los receptores libres e inactivos se pueden activar de forma independiente sin necesidad de formar dímeros e incluso en ausencia de su ligando (Du y Lovly, 2018; Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020) (**Figura 5b**).

1.2.2. Sobreexpresión genómica

En numerosos tipos de tumores se ha observado que diversos tipos de receptores (especialmente HER1 y HER2) aparecen sobreexpresados (**Figura 5c**). El motivo de esta sobreexpresión todavía no se ha descubierto, pero se cree que las células tumorales incrementan la expresión de RTKs para inducir de forma constitutiva procesos de proliferación, crecimiento, migración, supervivencia, entre otros (Du y Lovly, 2018; Dimri y Satyanarayana, 2020).

1.2.3. Reordenamientos cromosómicos

Diversos estudios genómicos realizados sobre material tumoral han permitido identificar varios reordenamientos cromosómicos que dan lugar a proteínas de fusión oncogénicas. Estas proteínas presentan dominios de fusión que permiten la dimerización y activación de los receptores en ausencia de ligando (Stransky *et al.*, 2014) (**Figura 5d**).

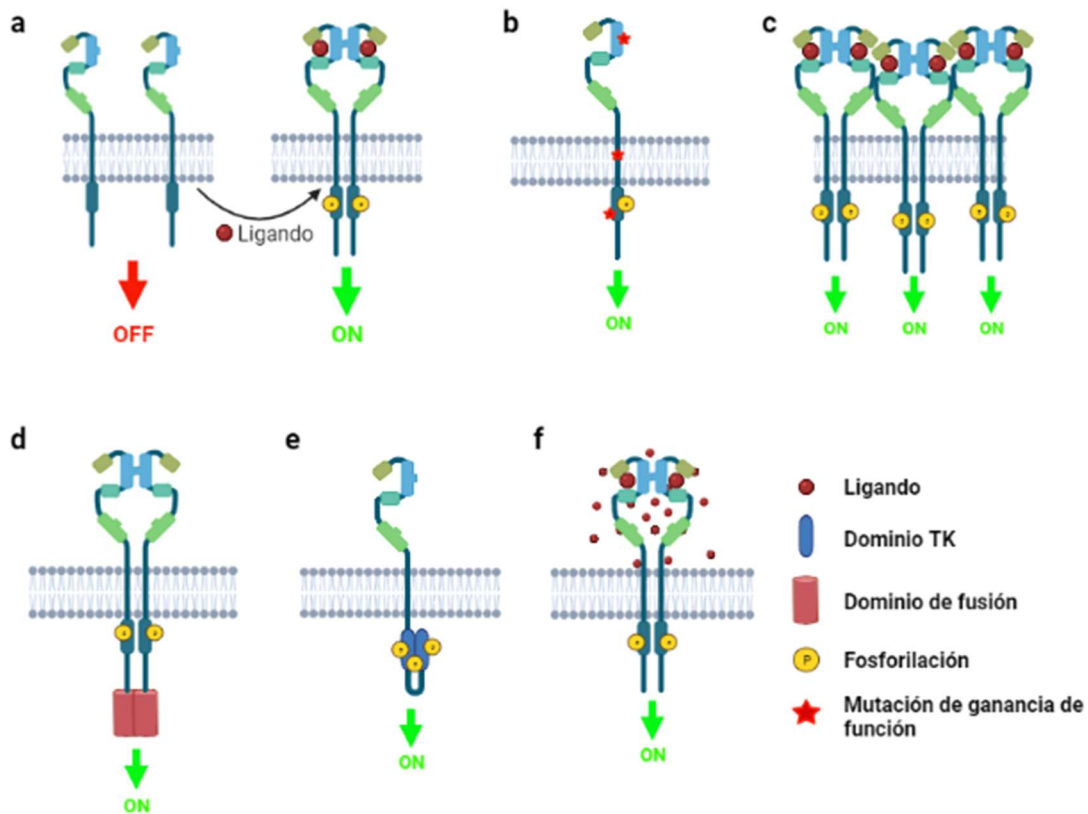


Figura 5. Tipos de mutaciones o alteraciones que pueden modificar la activación y actividad de los RTKs. Se muestra la activación en condiciones fisiológicas (**a**), mutaciones de ganancia de función (**b**), sobreexpresión de receptores (**c**), reordenamientos cromosómicos (**d**), duplicación de los dominios TK (**e**) y activación autocrina (**f**). Figura de elaboración propia.

1.2.4. Duplicación de los dominios quinasa

Otra alteración frecuente en células tumorales es la presencia en estos RTKs de dos o más dominios TK. Esto les aporta la capacidad de llevar a cabo la trans-autofosforilación sin necesidad de que se produzca la dimerización y en ausencia de ligando (Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020) (**Figura 5e**).

1.2.5. Activación autocrina

Las células tumorales tienen la capacidad de modificar el microambiente mediante la liberación de mensajeros que emplean para inducir procesos de inmortalidad, antiapoptosis,

crecimiento, proliferación y migración celular. Siguiendo este mecanismo, las células malignas son capaces de secretar de forma masiva al espacio extracelular factores de crecimiento y otras moléculas, activando sus propios RTKs de manera autocrina y desencadenando cascadas de señalización (Du y Lovly, 2018; Dimri y Satyanarayana, 2020) (**Figura 5f**).

2. RTKs en el hepatocarcinoma

Los RTKs juegan un papel importante en el desarrollo y progresión del CHC. Cuando los genes de dichos RTKs presentes en los hepatocitos desarrollan alguna mutación o alteración, como las mencionadas anteriormente, se convierten en oncogenes que generan proteínas anómalas, las cuales participan en la tumorigénesis. Los principales RTKs conductores del desarrollo y progresión tumoral en el CHC son los que se recogen en la **Tabla 2** (Giannelli *et al.*, 2007; Huynh *et al.*, 2012; Du y Lovly, 2018; Dimri y Satyanarayana, 2020).

El hígado es un órgano altamente vascularizado ya que requiere una buena conexión vascular para la regeneración efectiva del tejido hepático. Así mismo, también se necesita una adecuada vascularización para el desarrollo de CHC, principalmente para el crecimiento tumoral, la angiogénesis del tumor y la posterior metástasis. Por este motivo, VEGF y su receptor tienen un papel importante en la progresión del CHC (Huynh *et al.*, 2012). En muestras tumorales se ha observado una sobreexpresión de VEGFRs y elevados niveles de ARNm de VEGF. Se cree que la hipoxia generada en las primeras etapas del tumor provoca la producción de IGF, y este estimula la producción de VEGF para inducir la angiogénesis y reducir la hipoxia en la parte más interna del tumor. Los estudios llevados a cabo hasta el momento parecen indicar que la sobreexpresión de VEGF y su receptor controlan e inducen la angiogénesis necesaria para la progresión del CHC (Raoul *et al.*, 2017; Dimri y Satyanarayana, 2020).

Las mutaciones en el gen de EGFR aparecen con distinta frecuencia en función de los pacientes, pero tienen papeles importantes en la supervivencia, la proliferación y la adhesión de las células tumorales (Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020). La ruta de señalización mediada por IGF sí aparece desregulada con frecuencia en el CHC. IGF e IGFR intervienen en procesos de proliferación, migración e inhibición de la apoptosis, mediante la activación de las vías de señalización RAS/MAPK y PI3K/Akt (Perera *et al.*, 2020; Roderburg *et al.*, 2020). Se ha observado que IGF-2 se sobreexpresa en células de CHC y provoca la activación descontrolada de estas vías de señalización, dando lugar a una proliferación descontrolada y una resistencia a la apoptosis (Dimri y Satyanarayana, 2020).

HGF y su receptor c-Met también participan en el desarrollo de CHC cuando aparecen mutados. Este receptor activa las vías PLC, PI3K y RAS/ERK, desencadenando procesos de proliferación, migración, supervivencia y morfogénesis celular. En CHC aparece frecuentemente sobreexpresado o presenta mutaciones de ganancia de función, contribuyendo al desarrollo y progresión tumoral (Huynh *et al.*, 2012; Dimri y Satyanarayana, 2020).

Por último, los receptores de FGF y PDGF también se encuentran mutados en el CHC, aunque con menos frecuencia. Generalmente contribuyen a la angiogénesis y a la activación de otras cascadas de señalización relacionadas con la activación autocrina y la modificación del microambiente tumoral (de Rosamel y Blanc, 2017; Wu y Fu, 2018; Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020).

En resumen, las mutaciones o alteraciones de los RTKs o sus ligandos tienen un papel clave en el desarrollo y progresión del CHC ya que intervienen en procesos tumorgénicos como la angiogénesis, la proliferación, la migración, la resistencia a la apoptosis, etc. Por ello, conocer las mutaciones de estos receptores y cómo afectan a la progresión tumoral es fundamental para poder desarrollar tratamientos efectivos que empleen estos elementos como diana contra CHC.

3. Inhibidores de RTKs para el tratamiento contra el cáncer

En las últimas décadas se ha indicado que las proteínas TK, y especialmente los RTKs, podrían constituir prometedoras dianas para el tratamiento del cáncer (Giannelli *et al.*, 2007; Pottier *et al.*, 2020). Como se ha comentado anteriormente, los RTKs juegan papeles clave en el desarrollo y progresión de numerosos tipos de cánceres, por lo que el bloqueo farmacológico de estos receptores puede permitir desactivar las vías de señalización que dirigen la oncogénesis (Poliaková *et al.*, 2018). En el caso del CHC, las principales dianas empleadas para el tratamiento de este cáncer son los RTKs recogidos en la **Figura 4**, así como el receptor KIT, un receptor del SCF (factor de crecimiento de las células troncales) implicado en la supervivencia celular (Dimri y Satyanarayana, 2020; Perera *et al.*, 2020).

Los inhibidores tirosín quinasa o TKIs son un grupo de pequeñas moléculas que bloquean la acción tirosín quinasa de los RTKs, bloqueando la unión del ligando, la dimerización o la actividad catalítica. Así, inactivan de forma selectiva las vías de transducción de señales que participan en la progresión de los tumores (Esteban-Villarrubia *et al.*, 2020). El bloqueo de estas rutas de señalización empleando TKIs ha obtenido resultados prometedores en ensayos clínicos de distintos tipos de cánceres, ya que las vías en las que participan los RTKs

se encuentran desreguladas en prácticamente todos los tipos de tumores (Li *et al.*, 2019; Qin *et al.*, 2019; Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

Actualmente, existen unos 60 TKIs aprobados por la FDA, o en ensayos clínicos de fase IV, y otros 80 compuestos se están estudiando como nuevos TKIs para el tratamiento de diversas patologías (Smidova *et al.*, 2021). Estos TKIs pueden ser de dos tipos:

- TKIs específicos de una diana: estos fármacos bloquean de forma selectiva un tipo de RTK, sin afectar al resto de receptores presentes en la célula.
- TKIs multi-diana: este tipo de fármacos tiene la capacidad de bloquear distintos tipos de RTKs y sus respectivas vías de forma simultánea (de Rosamel y Blanc, 2017).

Actualmente, los TKIs de diana única no se suelen emplear de forma individual para el tratamiento contra el cáncer, debido a que los procesos tumorgénicos no están dirigidos únicamente por un tipo de RTK ni por una única vía de señalización. Por ejemplo, los TKIs que bloquean de forma selectiva VEGFR reducen el proceso de angiogénesis, pero no son capaces de bloquearlo por completo ya que este proceso también se estimula a través de receptores PDGFR y FGFR. Este es el principal inconveniente de este tipo de TKIs. No obstante, para solucionar este problema se crean cócteles y tratamientos combinados con estos fármacos para bloquear varias vías de señalización y obtener tratamientos más efectivos que logren frenar la progresión tumoral (Terada *et al.*, 2015; de Rosamel y Blanc, 2017; Roderburg *et al.*, 2020).

Por otra parte, los TKIs multi-diana sí se utilizan ampliamente para el tratamiento de diversos tipos de cánceres. La principal ventaja de este grupo de inhibidores es que pueden bloquear varias rutas de forma simultánea. (Terada *et al.*, 2015; de Rosamel y Blanc, 2017; Roderburg *et al.*, 2020).

Cabe mencionar que el campo de investigación de los TKIs ha evolucionado notablemente en los últimos años. Si bien hace unas décadas no se obtenían buenos resultados en los estudios con TKIs, actualmente se están obteniendo resultados prometedores en un buen número de moléculas que se podrían convertir en nuevos TKIs para el tratamiento del cáncer y otras patologías (Eso y Marusawa, 2018; Wu y Fu, 2018; Foerster y Galle, 2021). Sin embargo, la aplicabilidad, la eficiencia y la efectividad de estos tratamientos debe seguir mejorando (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

3.1. Resistencia a TKIs

En los tratamientos que emplean TKIs es relativamente frecuente la adquisición de resistencia a estos fármacos, especialmente en tratamientos prolongados en el tiempo. No se conoce exactamente cómo adquieren las células tumorales esta resistencia, pero se cree que está relacionado con la aparición de mutaciones en los genes que codifican para los receptores y con la inducción paracrina y autocrina (Li *et al.*, 2019; Pottier *et al.*, 2020).

En el primer caso, se pueden dar fenómenos de *splicing* o mutaciones que provoquen cambios en los receptores a nivel génico y los hagan insensibles a los TKIs (Dervisis y Klahn, 2016; de Rosamel y Blanc, 2017). En el segundo caso, se observó que la inactivación de determinados receptores estimula la activación de otras vías de señalización paralelas a través de mensajeros autocrinos y paracrinos, de modo que las células tumorales siguen induciendo procesos oncogénicos en presencia de los TKIs (Poliaková *et al.*, 2018; Dimri y Satyanarayana, 2020).

La adquisición de resistencia por parte de las células tumorales ha exigido el desarrollo de terapias sistémicas con TKIs de primera, segunda e incluso tercera línea en algunos cánceres. La elección entre una u otra línea de tratamiento depende del estado del tumor y de las propias características del paciente, siendo lo más común empezar por tratamientos de primera línea y emplear después otros tratamientos en caso de aparición de resistencias u otras complicaciones (Sun y Cabrera, 2018; Roderburg *et al.*, 2020).

4. Terapias sistémicas para el tratamiento de CHC avanzado

Los pacientes diagnosticados con CHC únicamente pueden recibir tratamientos curativos en aproximadamente el 30% de los casos (de Rosamel y Blanc, 2017). Siguiendo los criterios del algoritmo BCLC, mencionados en la introducción del presente trabajo, solo se emplean métodos curativos en los estadios tempranos e intermedios (BCLC-0,-A y -B). Para estadios posteriores ya no es posible extirpar el tumor ni se asegura la eliminación del mismo empleando quimioterapia o radioterapia clásica. Por este motivo, en pacientes con CHC en estado avanzado (BCLC-C) se recurre a terapias o tratamientos sistémicos que intentan frenar la progresión tumoral para evitar que el cáncer progrese y que se llegue a un estado metastásico (Faivre *et al.*, 2020; Perera *et al.*, 2020).

Durante algunos años, el sorafenib ha sido el único TKI aprobado para el tratamiento del CHC avanzado. No obstante, actualmente existen nuevas terapias que también han

demostrado ser eficaces en el tratamiento del hepatocarcinoma (Raoul *et al.*, 2019). Dentro de estos nuevos tratamientos nos encontramos TKIs, anticuerpos anti-VEGFR e inhibidores de proteínas clave en las rutas de transducción de señales. Estos tratamientos se clasifican en terapias sistémicas de primera y segunda línea (Roderburg *et al.*, 2020).

4.1. Tratamientos sistémicos de primera línea

Los tratamientos de primera línea son los primeros en emplearse para tratar una patología, es decir, son los tratamientos estándar tras el diagnóstico (Sun y Cabrera, 2018).

4.1.1. TKIs de primera línea

4.1.1.1. Sorafenib

Sorafenib es un TKI multi-diana que se administra por vía oral. Fue el primer TKI aprobado y se estableció como tratamiento estándar para el CHC avanzado. Además, está autorizado para el tratamiento del carcinoma en células renales y presenta una buena eficacia en pacientes con CHC infectados por VHC (Raoul *et al.*, 2019; Foerster y Galle, 2021).

Actúa inhibiendo los receptores tirosín quinasa VEGFR2, PDGFR y KIT. También actúa bloqueando la vía RAS/MAPK mediante la inhibición de las proteínas RAF y RAS (Roderburg *et al.*, 2020). La resistencia a este TKI ha sido reportada en un gran número de pacientes tratados, pero todavía no se sabe de forma precisa la causa y mecanismos subyacentes (Raoul *et al.*, 2019). Los principales efectos secundarios observados tras el empleo de sorafenib son diarrea, fatiga, trastornos dermatológicos y pérdida de peso (Terada *et al.*, 2015).

4.1.1.2. Lenvatinib

Lenvatinib es un TKI multi-diana de administración oral. Se aprobó en 2018 para su uso en CHC avanzado y en estadios intermedios donde no hay posibilidad de extirpación del tumor. Además, presenta mayor eficacia que sorafenib en pacientes infectados con VHB (Kudo, 2017).

El lenvatinib actúa inhibiendo los receptores VEGFR1-3, FGFR1-4, PDGFR y KIT. Funciona de forma similar a sorafenib, pero con lenvatinib aumenta el índice ORR (*Overall response rate*), un índice que indica la proporción de pacientes que responden de forma satisfactoria a una terapia. Por ello, este fármaco se emplea como tratamiento de primera línea y en casos de resistencia puede sustituir al sorafenib (Matsuki *et al.*, 2018; Hatanaka *et al.*, 2021).

Los efectos secundarios observados son más frecuentes y severos que con sorafenib e incluyen la pérdida rápida de peso e hipertensión, además de los efectos adversos observados con sorafenib (Kudo, 2017; Raoul *et al.*, 2019).

4.1.2. Inmunoterapia de primera línea

En el campo de la inmunoterapia oncológica se ha estudiado durante años el empleo de anticuerpos monoclonales para bloquear los dominios extracelulares de los RTKs e impedir su activación (Kudo, 2019). En los últimos años se han desarrollado anticuerpos específicos frente a la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1), una proteína de superficie clave para la apoptosis de las células T. En estados oncogénicos se sobreexpresa PD-L1, el ligando de esta proteína, en la superficie de las células tumorales de modo que se produce la muerte de las células T y las células malignas logran la evasión inmunitaria, continuando con el desarrollo y progresión tumoral (Harding, 2018; Kudo, 2019; Faivre *et al.*, 2020).

Existe una terapia combinada de dos anticuerpos aprobada recientemente, que parece ser eficaz para el tratamiento de pacientes con CHC avanzado, por lo que se puede emplear como terapia de primera línea (Roderburg *et al.*, 2020). Los dos anticuerpos que se emplean son bevacizumab y atezolizumab, que actúan bloqueando VEGF y PD-L1, respectivamente. Hasta el momento no se han reportado efectos secundarios. No obstante, esta terapia se encuentra en fase de prueba y se requiere tiempo para analizar la eficacia y seguridad del tratamiento, aunque los resultados obtenidos son prometedores (Roderburg *et al.*, 2020; Mohr *et al.*, 2021). Gracias al potencial interés de esta terapia, actualmente se están testando numerosas combinaciones de anticuerpos y TKIs en busca de un mejor tratamiento para el CHC (Foerster y Galle, 2021).

4.2. Tratamientos sistémicos de segunda línea

Los tratamientos de segunda línea se emplean cuando los de primera línea fracasan, generalmente debido al desarrollo de resistencias u otras complicaciones. Así mismo, se emplean cuando no se pueden emplear los tratamientos de primera línea por las propias características del paciente (Sun y Cabrera, 2018).

4.2.1. TKIs de segunda línea

4.2.1.1. Regorafenib

Regorafenib es un TKI multi-diana que se administra por vía oral. Se aprobó en 2017 para emplearlo en pacientes con CHC que han generado resistencia a sorafenib. Actúa

bloqueando VEGFR1-3, PDGFR, FGFR y KIT, entre otros. También actúa inhibiendo la vía RAS (Raoul *et al.*, 2019; Perera *et al.*, 2020; Roderburg *et al.*, 2020). Los efectos secundarios observados son toxicidad dermatológica, fatiga, diarrea e hipertensión. Estos efectos adversos están correlacionados con la duración del tratamiento (Terada *et al.*, 2015; Raoul *et al.*, 2019).

4.2.1.2. Cabozantinib

Cabozantinib es un TKI de administración oral que actúa sobre VEGFR1-3 y c-MET. Está aprobado su uso en pacientes con CHC previamente tratados con sorafenib (Perera *et al.*, 2020; Rathi *et al.*, 2020). Actualmente, se está estudiando la combinación de este TKI con anticuerpos monoclonales frente a proteínas clave como PD-1 (Foerster y Galle, 2021). Los principales efectos adversos reportados son hipertensión, fatiga, diarrea e incremento de transaminasas (Rimassa *et al.*, 2019; Rathi *et al.*, 2020).

4.2.2. Inmunoterapia de segunda línea

Actualmente, los fármacos inmunoterápicos de segunda línea para el tratamiento de CHC se encuentran en fases de prueba en ensayos clínicos (Mohr *et al.*, 2021).

4.2.2.1. Ramucirumab

Ramucirumab es un anticuerpo IgG1 (Inmunoglobulina G1) monoclonal que se une específicamente a VEGFR-2, bloqueando su activación, aunque su empleo no se considera estrictamente una inmunoterapia. Actualmente se emplea para el tratamiento de pacientes con CHC resistente a sorafenib y lenvatinib (Harding, 2018; Kudo, 2019; Raoul *et al.*, 2019). Se desaconseja su empleo en pacientes con un alto grado de cirrosis porque puede provocar edemas y astenia en estos pacientes (Eso y Marusawa, 2018; Raoul *et al.*, 2019).

4.2.2.2. Nivolumab

Nivolumab es un anticuerpo monoclonal que inhibe PD-1. Actualmente, su uso está aconsejado para pacientes con CHC y resistencia a los tratamientos de primera línea. En cuanto a los efectos adversos, solo se han observado signos de diarrea y fatiga en un número muy bajo de individuos (Kudo, 2019; Foerster y Galle, 2021).

4.2.2.3. Pembrolizumab

Pembrolizumab es un anticuerpo monoclonal anti-PD1. Se aconseja su uso para pacientes con CHC en los que no se pueda aplicar o no funcionen los tratamientos de primera línea (Roderburg *et al.*, 2020; Mohr *et al.*, 2021). El perfil de seguridad del fármaco parece

bueno, pero se ha reportado un caso de esofagitis en uno de los pacientes participantes en el estudio por lo que se requieren más estudios de seguridad y eficacia (Raoul *et al.*, 2019).

En resumen, actualmente existen 5 fármacos con eficacia demostrada para el tratamiento del CHC. Dos de ellos se emplean como tratamiento de primera línea (sorafenib y lenvatinib) y los otros tres en tratamientos de segunda línea, cuando falla sorafenib (regorafenib, cabozantinib y ramucirumab). Así mismo, existen dos tratamientos inmunoterápicos (nivolumab y pembrolizumab) y una terapia combinada (atezolizumab + bevacizumab) (**Figura 6**). Estos últimos todavía se encuentran en fases de ensayos clínicos por lo que será necesario esperar para analizar cómo se comportan en cuanto a eficacia y seguridad, aunque los resultados obtenidos hasta ahora son muy prometedores.

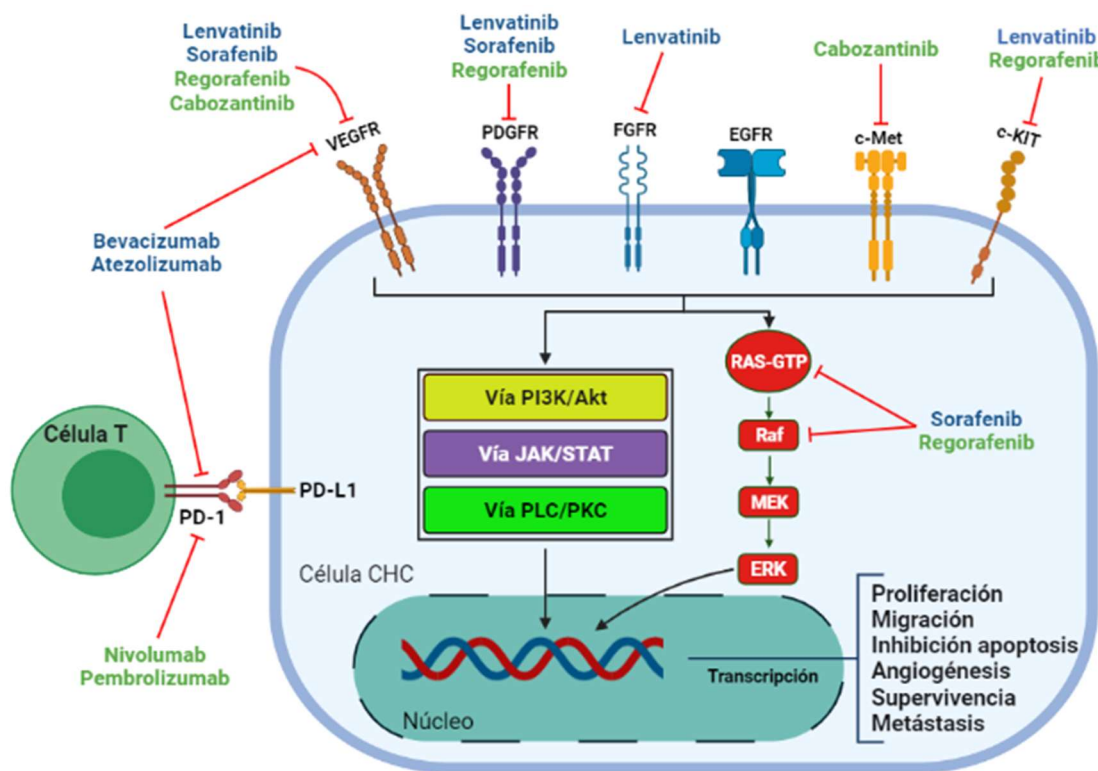


Figura 6. Representación de los TKIs y anticuerpos empleados en los tratamientos sistémicos contra CHC avanzado. Se muestran los fármacos empleados en terapias de primera (azul) y segunda (verde) línea. Así mismo, se indican las moléculas diana sobre las que llevan a cabo su acción de bloqueo (flechas rojas de inhibición). Figura de elaboración propia.

CONCLUSIONES

- Las proteínas TK, y más concretamente los RTKs, funcionan como protooncogenes en un gran número de cánceres, siendo el CHC uno de ellos. Los RTKs participan en numerosas vías de transducción de señales relacionadas con procesos celulares de

proliferación, crecimiento, supervivencia, migración y angiogénesis, entre otros. Por ello, las mutaciones o alteraciones de estos receptores provocan una desregulación e hiperactivación en dichas vías de señalización que conduce a un estado oncogénico.

- Los TKIs son moléculas de bajo peso molecular que actúan sobre los RTKs e impiden su activación mediante el bloqueo de la unión del ligando, el bloqueo de la dimerización o la inhibición de la actividad catalítica. De este modo, pueden inactivar las vías de señalización que dirigen el desarrollo y progresión del CHC.
- La aplicación de TKIs en forma de terapias sistémicas ha mostrado buenos resultados durante los últimos años. Además, el empleo de estos inhibidores en CHC avanzado ha permitido aumentar la supervivencia y mejorar la calidad de vida de muchos pacientes. Así mismo, actualmente se siguen desarrollando nuevas moléculas que actúen como TKIs y nuevas estrategias inmunoterápicas para continuar mejorando el tratamiento de esta neoplasia.

Como conclusión general, los RTKs han ganado relevancia en el campo de la investigación oncológica durante las últimas décadas. Debido a su papel clave en el desarrollo y progresión del CHC se han convertido en una de las principales dianas para el tratamiento de este tipo de cáncer. Por este motivo, los TKIs son las herramientas idóneas, lo que se ve reflejado por el gran número de estos inhibidores aprobados o en fase de ensayo clínico para el tratamiento de CHC. Cada vez se obtienen resultados más prometedores y se descubren nuevas moléculas que podrían emplearse para mejorar estos tratamientos. No obstante, la ciencia debe continuar explotando este campo de investigación para lograr obtener nuevos fármacos cada vez más eficaces y seguros.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Durante años, sorafenib fue el único TKI disponible para el tratamiento del CHC. En la actualidad se dispone de 8 posibles tratamientos para tratar esta neoplasia (TKIs y anticuerpos) y existe un gran número de TKIs estudiándose en ensayos clínicos de fase II y III con resultados potencialmente interesantes. También, se están analizando tratamientos combinados de TKIs y junto con anticuerpos con objeto de mejorar su capacidad terapéutica. Todos estos estudios pueden lograr una mayor efectividad y seguridad de los tratamientos contra el CHC.

REFERENCIAS

- Balogh, J., Victor, D., Asham, E. H., Burroughs, S. G., Bektour, M., Saharia, A., Li, X., Ghobrial, M. y Monsour, H. (2016) "Hepatocellular carcinoma: a review", *Journal of Hepatocellular Carcinoma*, Volume 3, pp. 41–53.
- Birgani, M. T. y Carloni, V. (2017) "Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular carcinoma progression and therapy", *International Journal of Molecular Sciences*. doi:10.3390/ijms18020405.
- Cancer Today (2020). Disponible en <https://geo.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers> (Acceso: 31 de marzo de 2021).
- Centre for Reviews and Dissemination (2020) *Systematic Reviews: CRD's guidance for undertaking reviews in health care*. Disponible en: www.york.ac.uk/inst/crd (Acceso: 23 de febrero de 2021).
- Dervisis, N. y Klahn, S. (2016) "Therapeutic innovations: Tyrosine kinase inhibitors in cancer", *Veterinary Sciences*. doi:10.3390/vetsci3010004.
- Dimri, M. y Satyanarayana, A. (2020) "Molecular signaling pathways and therapeutic targets in hepatocellular carcinoma", *Cancers*. doi:10.3390/cancers12020491.
- Du, Z. y Lovly, C. M. (2018) "Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer", *Molecular Cancer*. doi:10.1186/s12943-018-0782-4.
- Eso, Y. y Marusawa, H. (2018) "Novel approaches for molecular targeted therapy against hepatocellular carcinoma", *Hepatology Research*, 48(8), pp. 597–607.
- Esteban-Villarrubia, J., Soto-Castillo, J. J., Pozas, J., Román-Gil, M. S., Orejana-Martín, I., Torres-Jiménez, J., Carrato, A., Alonso-Gordo, T. y Molina-Cerrillo, J. (2020) "Tyrosine kinase receptors in oncology", *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), pp. 1–48.
- Faivre, S., Rimassa, L. y Finn, R. S. (2020) "Molecular therapies for HCC: Looking outside the box", *Journal of Hepatology*, 72(2), pp. 342–352.
- Foerster, F. y Galle, P. R. (2021) "The current landscape of clinical trials for systemic treatment of hcc", *Cancers*. doi:10.3390/cancers13081962.
- Ghouri, Y. A., Mian, I. y Rowe, J. H. (2017) "Review of hepatocellular carcinoma: Epidemiology, etiology, and carcinogenesis", *Journal of Carcinogenesis*, 16 (1), pp. 1–8.
- Giannelli, G., Napoli, N. y Antonaci, S. (2007) "Tyrosine Kinase Inhibitors: A Potential Approach to the Treatment of Hepatocellular Carcinoma", *Current Pharmaceutical Design*, 13(32), pp. 3301–3304.
- Gotink, K. J. y Verheul, H. M. W. (2010) "Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: What is their mechanism of action?", *Angiogenesis*, 13(1), pp. 1–14.
- Harding, J. J. (2018) "Immune checkpoint blockade in advanced hepatocellular carcinoma: An update and critical review of ongoing clinical trials", *Future Oncology*, 14(22), pp. 2293–2302.
- Hartmann, J., Haap, M., Kopp, H.-G. y Lipp, H.-P. (2009) "Tyrosine Kinase Inhibitors – A Review on Pharmacology, Metabolism and Side Effects", *Current Drug Metabolism*, 10(5), pp. 470–481.
- Hatanaka, T., Naganuma, A. y Kakizaki, S. (2021) "Lenvatinib for hepatocellular carcinoma: A literature review", *Pharmaceuticals*, 14 (1), pp. 1–20.
- Huynh, H., Wei Jie Ong, R., Yi Qing Li, P., Shean Lee, S., Yang, S., Wen Chong, L., Anh Tuan Luu, D., Tzen Jong, C. y Wei Ling Lam, I. (2012) "Targeting Receptor Tyrosine Kinase Pathways in Hepatocellular Carcinoma", *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11(6), pp. 560–575.
- Kanda, T., Goto, T., Hirotsu, Y., Moriyama, M. y Omata, M. (2019) "Molecular mechanisms driving progression of liver cirrhosis towards hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C infections: A review", *International Journal of Molecular Sciences*. doi:10.3390/ijms20061358.
- Kudo, M. (2017) "Lenvatinib in Advanced Hepatocellular Carcinoma", *Liver Cancer*, 6(4), pp. 253–263.
- Kudo, M. (2019) "Immuno-Oncology Therapy for Hepatocellular Carcinoma: Current Status and Ongoing Trials", *Liver Cancer*, 8(4), pp. 221–238.
- Lemmon, M. A. y Schlessinger, J. (2010) "Cell signaling by receptor tyrosine kinases", *Cell*, 141(7), pp. 1117–1134.
- Li, J., Halfter, K., Zhang, M., Saad, C., Xu, K., Bauer, B., Huang, Y., Shi, L. y Mansmann, U. R. (2019) "Computational analysis of receptor tyrosine kinase inhibitors and cancer metabolism: Implications for treatment and discovery of potential therapeutic signatures", *BMC Cancer*. doi:10.1186/s12885-019-5804-0.

- Llovet, J. M., Zucman-Rossi, J., Pikarsky, E., Sangro, B., Schwartz, M., Sherman, M. y Gores, G. (2016) "Hepatocellular carcinoma", *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), pp. 1–23.
- Matsuki, M., Hoshi, T., Yamamoto, Y., Ikemori-Kawada, M., Minoshima, Y., Funahashi, Y. y Matsui, J. (2018) "Lenvatinib inhibits angiogenesis and tumor fibroblast growth factor signaling pathways in human hepatocellular carcinoma models", *Cancer Medicine*, 7(6), pp. 2641–2653.
- Mohr, R., Jost-Brinkmann, F., Özdirik, B., Lambrecht, J., Hammerich, L., Loosen, S. H., Luedde, T., Demir, M., Tacke, F. y Roderburg, C. (2021) "Lessons From Immune Checkpoint Inhibitor Trials in Hepatocellular Carcinoma", *Frontiers in Immunology*. doi:10.3389/fimmu.2021.652172.
- Perera, S., Kelly, D. y O'kane, G. M. (2020) "Non-immunotherapy options for the first-line management of hepatocellular carcinoma: Exploring the evolving role of sorafenib and lenvatinib in advanced disease", *Current Oncology*. 27(53), pp. 5165–5172.
- Poliaková, M., Aebbersold, D. M., Zimmer, Y. y Medová, M. (2018) "The relevance of tyrosine kinase inhibitors for global metabolic pathways in cancer", *Molecular Cancer*. doi:10.1186/s12943-018-0798-9.
- Pottier, C., Fresnais, M., Gilon, M., Jérusalem, G., Longuespée, R. y Sounni, N. E. (2020) "Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer: Breakthrough and Challenges of Targeted Therapy", *Cancers*, 12(3), p. 731.
- Qin, S., Li, A., Yi, M., Yu, S., Zhang, M. y Wu, K. (2019) "Recent advances on anti-angiogenesis receptor tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy", *Journal of Hematology and Oncology*. doi:10.1186/s13045-019-0718-5.
- Raoul, J.-L., Frenel, J.-S., Raimbourg, J. y Gilibert, M. (2019) "Current options and future possibilities for the systemic treatment of hepatocellular carcinoma", *Hepatic Oncology*, 6(1), p. HEP11.
- Raoul, J. L., Gilibert, M., Adhoute, X. y Edeline, J. (2017) "An in-depth review of chemical angiogenesis inhibitors for treating hepatocellular carcinoma", *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18(14) pp. 1467–1476.
- Rathi, N., Maughan, B. L., Agarwal, N. y Swami, U. (2020) "Mini-review: Cabozantinib in the treatment of advanced renal cell carcinoma and hepatocellular carcinoma", *Cancer Management and Research*, 20(12), pp. 3741–3749.
- Rimassa, L., Danesi, R., Pressiani, T. y Merle, P. (2019) "Management of adverse events associated with tyrosine kinase inhibitors: Improving outcomes for patients with hepatocellular carcinoma", *Cancer Treatment Reviews*, 70(17), pp. 20–28.
- Roderburg, C., Özdirik, B., Wree, A., Demir, M. y Tacke, F. (2020) "Systemic treatment of hepatocellular carcinoma: from sorafenib to combination therapies", *Hepatic Oncology*, 7(2), p. HEP20.
- Rodríguez-Hernández, M. A., Chapresto-Garzón, R., Cadenas, M., Navarro-Villarán, E., Negrete, M., Gómez-Bravo, M. A., Victor, V. M., Padillo, F. J. y Muntané, J. (2020) "Differential effectiveness of tyrosine kinase inhibitors in 2D/3D culture according to cell differentiation, p53 status and mitochondrial respiration in liver cancer cells", *Cell Death & Disease*, 11(5), p. 339.
- de Rosamel, L. y Blanc, J. F. (2017) "Emerging tyrosine kinase inhibitors for the treatment of hepatocellular carcinoma", *Expert Opinion on Emerging Drugs*, 22(2), pp. 175–190.
- Singal, A. G., Lampertico, P. y Nahon, P. (2020) "Epidemiology and surveillance for hepatocellular carcinoma: New trends", *Journal of Hepatology*, 72(2), pp. 250–261.
- Smidova, V., Michalek, P., Goliasova, Z., Eckschlager, T., Hodek, P., Adam, V. y Heger, Z. (2021) "Nanomedicine of tyrosine kinase inhibitors", *Theranostics*, 11(4), pp. 1546–1567.
- Stransky, N., Cerami, E., Schalm, S., Kim, J. L. y Lengauer, C. (2014) "The landscape of kinase fusions in cancer", *Nature Communications*, 5(1), pp. 1–10.
- Sun, W. y Cabrera, R. (2018) "Systemic Treatment of Patients with Advanced, Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Emergence of Therapies", *Journal of Gastrointestinal Cancer*, 49(2), pp. 107–115.
- Terada, T., Noda, S. y Inui, K. I. (2015) "Management of dose variability and side effects for individualized cancer pharmacotherapy with tyrosine kinase inhibitors", *Pharmacology and Therapeutics*, 152(8), pp. 125–134.
- Trojan, J., Zangos, S. y Schnitzbauer, A. A. (2016) "Diagnostics and treatment of hepatocellular carcinoma in 2016: Standards and developments", *Visceral Medicine*, 32(2), pp. 116–120.
- Villanueva, A. (2019) "Hepatocellular Carcinoma", *New England Journal of Medicine*, 380(15), pp. 1450–1462.
- Wu, S. y Fu, L. (2018) "Tyrosine kinase inhibitors enhanced the efficacy of conventional chemotherapeutic agent in multidrug resistant cancer cells", *Molecular Cancer*. doi:10.1186/s12943-018-0775-3.