

## PONIENDO EN CLARO

### Nuevas terapias dirigidas para el tratamiento del cáncer

José Manuel Jiménez Heras<sup>1</sup>, Laura Lindo Yugueros<sup>2</sup>, Laura Maeso Alonso<sup>3</sup>, Daniel Martínez Manuel<sup>4</sup>, Lorena Mata Gómez<sup>5</sup>, Ana Pariente Delgado<sup>6</sup>, Cayetano Pleguezuelos Manzano<sup>7</sup>, Israel Prada García<sup>8</sup>, Pablo Prieto Fuertes<sup>9</sup>, Patricia Primo Arias<sup>10</sup>, Ignacio Prusen Mota<sup>11</sup>, Gabriel Ramírez Nieto<sup>12</sup>, Daniel Roca Lema<sup>13</sup>, Sonia Sánchez Bezanilla<sup>14</sup>, Natalia Sanz Gomez<sup>15</sup>, Eider Valle Encinas<sup>16</sup>, Roberto Vázquez Fernández<sup>17</sup>, Cristina Vega Carbajal<sup>18</sup>, Paloma Vicario Sánchez<sup>19</sup>, Lucía Villamañán de Santiago<sup>20</sup>, Irene Villar Rúa<sup>21</sup>, María C. Marín<sup>22</sup>

Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León. 1-21 Alumnos de 2º curso de Biotecnología. \*Todos los alumnos han contribuido de manera idéntica en la elaboración de este artículo. 22 Profesora de la asignatura Biología Celular. (Curso 2011-2012).

1. [jjimehoo@estudiantes.unileon.es](mailto:jjimehoo@estudiantes.unileon.es); 2. [llindyoo@estudiantes.unileon.es](mailto:llindyoo@estudiantes.unileon.es); 3. [lmaesaoo@estudiantes.unileon.es](mailto:lmaesaoo@estudiantes.unileon.es); 4. [dmartm01@estudiantes.unileon.es](mailto:dmartm01@estudiantes.unileon.es); 5. [lmatago00@estudiantes.unileon.es](mailto:lmatago00@estudiantes.unileon.es); 6. [aparidoo@estudiantes.unileon.es](mailto:aparidoo@estudiantes.unileon.es); 7. [cplegmoo@estudiantes.unileon.es](mailto:cplegmoo@estudiantes.unileon.es); 8. [ipradgo00@estudiantes.unileon.es](mailto:ipradgo00@estudiantes.unileon.es); 9. [ppriefoo@estudiantes.unileon.es](mailto:ppriefoo@estudiantes.unileon.es); 10. [pprimaoo@estudiantes.unileon.es](mailto:pprimaoo@estudiantes.unileon.es); 11. [iprusmoo@estudiantes.unileon.es](mailto:iprusmoo@estudiantes.unileon.es); 12. [graminoo@estudiantes.unileon.es](mailto:graminoo@estudiantes.unileon.es); 13. [drocaloo@estudiantes.unileon.es](mailto:drocaloo@estudiantes.unileon.es); 14. [ssanch00@estudiantes.unileon.es](mailto:ssanch00@estudiantes.unileon.es); 15. [nsanzgo00@estudiantes.unileon.es](mailto:nsanzgo00@estudiantes.unileon.es); 16. [evalleo00@estudiantes.unileon.es](mailto:evalleo00@estudiantes.unileon.es); 17. [rvazqfoo@estudiantes.unileon.es](mailto:rvazqfoo@estudiantes.unileon.es); 18. [cvegacoo@estudiantes.unileon.es](mailto:cvegacoo@estudiantes.unileon.es); 19. [pvicasoo@estudiantes.unileon.es](mailto:pvicasoo@estudiantes.unileon.es); 20. [lvilldoo@estudiantes.unileon.es](mailto:lvilldoo@estudiantes.unileon.es); 21. [ivillroo@estudiantes.unileon.es](mailto:ivillroo@estudiantes.unileon.es); 22. [carmen.marin@unileon.es](mailto:carmen.marin@unileon.es).

El cáncer es el término que se utiliza para englobar un conjunto de enfermedades que se caracterizan por el crecimiento descontrolado de células alteradas molecularmente por mutaciones o modificaciones epigenéticas. Estas alteraciones tienen como consecuencia la des-regulación de los mecanismos de señalización y control que mantienen la homeostasis celular. Los tratamientos contra el cáncer pretenden erradicar el tumor primario, así como tumores secundarios, metástasis, que surgen en diversas partes del cuerpo. La mayoría de los fármacos usados como quimioterapéuticos son sustancias citotóxicas que matan preferentemente, pero no de manera exclusiva, células que se están dividiendo activamente. Debido a la gran toxicidad de estos tratamientos, hoy en día la búsqueda de nuevos fármacos se centra en la obtención de terapias dirigidas. Las terapias dirigidas son fármacos que bloquean el crecimiento y diseminación del cáncer interfiriendo específicamente con moléculas de señalización o control, denominadas dianas moleculares. Se espera que estos fármacos, específicos para los cambios moleculares de las células cancerosas, sean más efectivos y menos tóxicos y ofrezcan a los médicos la posibilidad de personalizar el tratamiento contra el cáncer para cada paciente. En la presente revisión describimos algunas terapias dirigidas que se están utilizando actualmente en clínica.

**Palabras clave**

Quimioterapia, dianas moleculares, anticuerpos terapéuticos, inhibidores de kinasas, inhibidores de mTor, apoptosis, receptores tirosina kinasa.

**Introducción**

Las terapias dirigidas son nuevos tratamientos basados en sustancias contra dianas moleculares específicas de las células cancerosas. Para diseñar estas terapias es necesario un conocimiento profundo de los eventos moleculares que han producido la transformación celular, para poder identificar las dianas moleculares contra las cuales dirigir dicha terapia. Estas terapias interfieren con distintos procesos celulares como la proliferación, el crecimiento, la muerte y la diseminación de la célula tumoral. Muchas de estas terapias se concentran en proteínas asociadas con las vías de señalización celular, las cuales forman un sistema complejo de comunicación que rige las actividades y funciones básicas de la célula, como la división celular, el movimiento de las células, la reacción de las células a estímulos externos específicos y hasta la muerte celular.

Muchas de las terapias dirigidas han sido aprobadas por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA) para el tratamiento de tipos específicos de cáncer. Otras, se investigan en ensayos clínicos y en pruebas preclínicas (estudios de investigación con animales).

En la presente revisión, describimos algunas terapias dirigidas que se están utilizando actualmente en clínica: anticuerpos terapéuticos como Herceptin y Mapatumumab, o moléculas inhibitoras de kinasas citosólicas (Gleevec) o de kinasas reguladoras del control transcripcional del metabolismo (Everolimus).

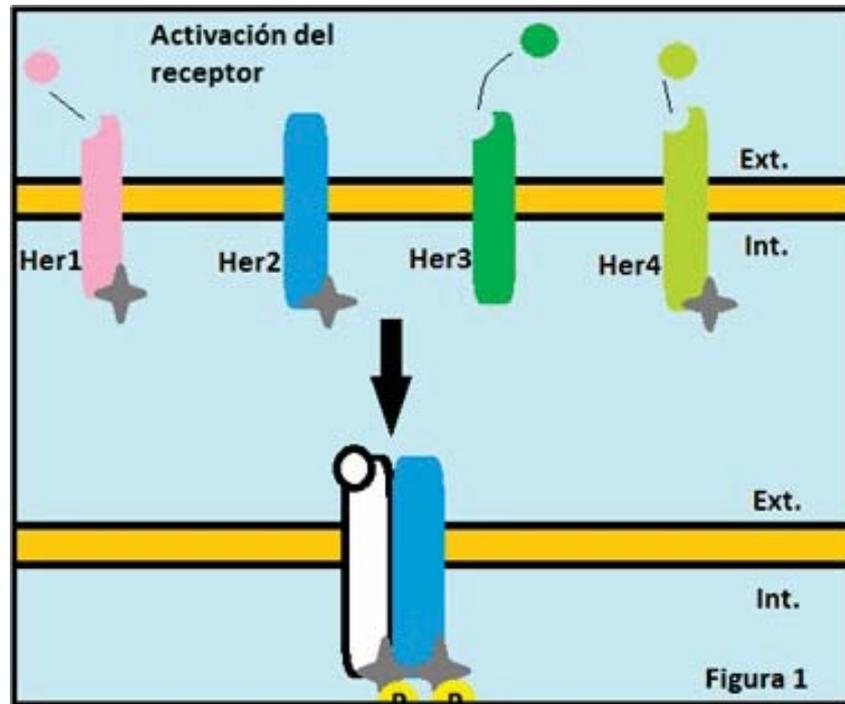
**Anticuerpos terapéuticos contra el cáncer de mama: Herceptin**

La mayoría de las terapias dirigidas pueden ser anticuerpos monoclonales. Un ejemplo clásico de estos es el Herceptin (conocido también como Avastin o Trastuzumab). Este fármaco es un anticuerpo monoclonal antagonista (inactivante) contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF), denominado (HER2 o EGFR), y es efectivo en el 15-25% de las cánceres de mama que sobreexpresan dicho receptor.

**Vía de señalización EGF-HER2/Ras/MAPK**

Para comprender el funcionamiento de Avastin, debemos hablar del receptor al cual se une e inactiva, Her2. Este receptor pertenece a la familia de receptores de membrana tirosin kinasa del EGF, en humanos HER (Human EGF receptors), los cuales tras ser activados por su ligando transmiten la señal de proliferación celular recibida. Esta activación de la función kinasa requiere el

reconocimiento del ligando, dimerización de receptores y la fosforilación cruzada de estos. Esta fosforilación del dominio intracelular de los receptores, generará una zona de reconocimiento y anclaje donde se formarán complejos de señalización que pondrán en marcha una vía de señales complejas e interrelacionadas cuya consecuencia es la proliferación celular (**Fig. 1**).



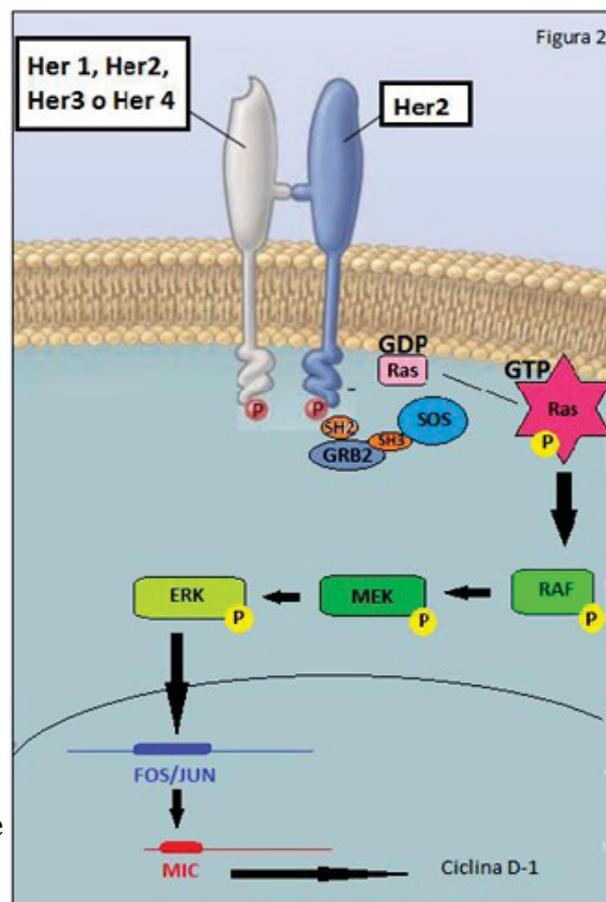
**Figura 1.** Esquema de la fosforilación de los receptores HER.

Los receptores HER activados van a reclutar proteínas adaptadoras, como GRB2, que se une a los dominios fosforilados del receptor y permiten la activación de la proteína Ras, un interruptor molecular que va a modular la respuesta celular a factores de crecimiento y otros estímulos celulares (**Fig. 2**).

Ras pertenece a una familia de proteínas con capacidad de unirse e hidrolizar el GTP, por eso se las denomina proteínas G monoméricas. La unión de estas proteínas al GTP está facilitada por un factor intercambiador de nucleótidos (GEF), denominado SOS. SOS contiene unos dedos de Arginina que actúan sobre la proteína Ras unida al GDP (inactiva), abriendo el sitio de unión para el GDP/GTP. El GDP sale, intercambiándose por el GTP presente en el citoplasma, el cual entra a favor de gradiente. De esta manera Ras es activada.

Cuando Ras se encuentra en estado activo puede activar a múltiples proteínas, denominadas efectoras de Ras, desencadenando múltiples vías de señalización celular; por eso se dice que Ras es un distribuidor de señales. La activación de Ras por factores de crecimiento, como el EGF, induce la proliferación celular. Esta respuesta celular es mediada por una vía de señalización citoplasmática denominada de las MAP kinasas (Mitogen activated

protein kinases, MAPKs). Esta vía está constituida por un grupo de tres kinasas (RAF, MEK y ERK) que van a activarse consecutivamente por fosforilaciones encadenadas (**Fig. 2**). ERK fosforilada forma dímeros, los cuales son trasladados al núcleo. Una vez en el núcleo, fosforila factores de transcripción que activarán la transcripción de genes de respuesta primaria o temprana. Estos genes, llamado Fos y Jun, son a su vez factores de transcripción, los cuales activarán genes como Myc. Myc activa genes que codifican para proteínas que regulan el ciclo celular como la ciclina D1, necesaria para que la célula quiescente active la síntesis de su DNA (fase S del ciclo celular) y comience así el ciclo celular y la posterior entrada en mitosis.



**Figura 2.** Esquema de la ruta de las MAP kinasas.

Cuando Ras se encuentra en estado activo puede activar a múltiples proteínas, denominadas efectoras de Ras, desencadenando múltiples vías de señalización celular; por eso se dice que Ras es un distribuidor de señales. La activación de Ras por factores de crecimiento, como el EGF, induce la proliferación celular. Esta respuesta celular es mediada por una vía de señalización citoplasmática denominada de las MAP kinasas (Mitogen activated protein kinases, MAPKs). Esta vía está constituida por un grupo de tres kinasas (RAF, MEK y ERK) que van a activarse consecutivamente por fosforilaciones

encadenadas (Fig. 2). ERK fosforilada forma dímeros, los cuales son traslocados al núcleo. Una vez en el núcleo, fosforila factores de transcripción que activarán la transcripción de genes de respuesta primaria o temprana. Estos genes, llamado Fos y Jun, son a su vez factores de transcripción, los cuales activarán genes como Myc. Myc activa genes que codifican para proteínas que regulan el ciclo celular como la ciclina D1, necesaria para que la célula quiescente active la síntesis de su DNA (fase S del ciclo celular) y comience así el ciclo celular y la posterior entrada en mitosis.

Los receptores HER también regulan la supervivencia celular mediante la activación de la vía de fosfatidilinositol-3-kinasa (PI3K), la cual se describirá más adelante (ver Figs. 3 y 4), inhibiendo de esta manera la apoptosis o muerte celular.

### ¿Por qué se utiliza el receptor HER2 como diana molecular para la terapia dirigida en el cáncer de mama?

En torno al 30% de las células de carcinoma de mama presentan una sobreexpresión del receptor Her2. Este receptor está en la membrana plasmática en forma pre-activada, pudiendo heterodimerizar con otros receptores que sí han sido activados por ligando y transducir esta señal. Al ser Her2 un receptor no dependiente de ligando, su dimerización permitirá la activación de la señalización con cantidades mínimas de ligando, e incluso, en ausencia de este. Es decir, la sobreexpresión de esa proteína en las células tumorales tendrá como resultado una transducción mayor de señales de proliferación y de supervivencia, características ambas de las células cancerosas.

Aquí entra en juego Herceptin, un anticuerpo monoclonal que se une de manera específica y antagónica al dominio extracelular de HER2. Esta unión inhibe la dimerización de HER2 con otros receptores, y por tanto, la vía de señalización antes descrita y la proliferación que esta induce.

### Utilización de Herceptin en clínica

Este fármaco solo debe ser utilizado en los casos en los que se ha demostrado la sobreexpresión de HER2. Ha sido utilizado en el tratamiento del cáncer de ovario, de pulmón, adenocarcinoma gástrico y cáncer de mama; siendo este último en el que se encontró un mayor éxito y en el que se han basado la mayoría de las investigaciones sobre esta terapia dirigida. Uno de los avances clínicos más relevantes del pasado año ha sido la demostración de que Herceptin en combinación con quimioterapia reduce en un 52% la progresión del cáncer ovárico, tanto recurrente como de nuevo diagnóstico.

A pesar de los resultados positivos obtenidos con el tratamiento de Herceptin, hay un porcentaje importante de pacientes que no responden al

fármaco. La resistencia puede derivar de la activación de una vía alternativa de señalización, por ejemplo la activación constitutiva de Ras, frecuente en tumores humanos. Debido a esto, se hace necesaria su combinación con otros fármacos como docetaxelo, anastrozol.

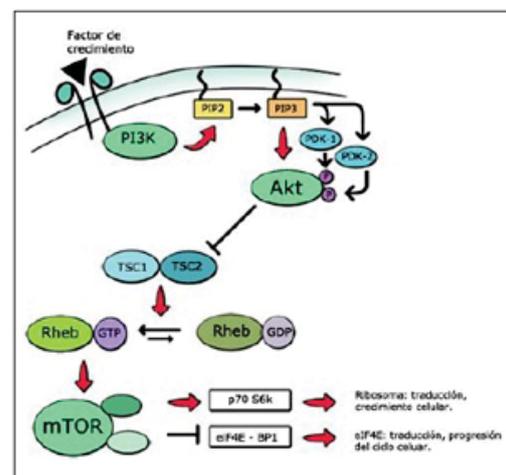
**Moléculas inhibitoras dirigidas contra el regulador transcripcional del metabolismo celular mTor: Everolimus**

La función de mTOR integra la regulación entre el crecimiento (en masa) y la proliferación celular, controlando el metabolismo celular mediante la inducción de la transcripción de genes metabólicos. Esto hace a mTor una diana ideal para terapia dirigida, y por ello, fármacos inhibidores de mTOR como la rapamicina y sus derivados (Everolimus), pueden tener especial relevancia terapéutica.

Vía de señalización PI3K/Akt/mTOR

mTOR es una proteína kinasa presente en la mayoría de las células y evolutivamente muy conservada. Está implicada en una compleja vía de señalización que estimula el crecimiento y proliferación celular, integrando diferentes señales relacionadas con la disponibilidad de nutrientes o el nivel energético. La mTOR es una gran proteína multidominio, dividida en dos complejos. El complejo de mTor 1 (conocido como mTORC1) es el mayor de los dos complejos y controla la síntesis de proteínas, lo que lleva a la angiogénesis (a través de la vía VEGF), la progresión del ciclo celular y el crecimiento celular, la adipogénesis y el metabolismo celular. El complejo también conduce a la inducción de la autofagia.

Como explicamos anteriormente (**Fig. 3**), los receptores de membrana para distintos factores de crecimiento, tales como la insulina, el EGF o el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), al unirse a su ligando se activan, y son capaces, a su vez, de activar la PI3K.



**Figura 3.** Esquema de señalización de la PI3K mediante la unión de receptores de membrana a distintos factores de crecimiento.

La PI3K fosforila moléculas de fosfatidilinositol bisfosfato (PIP<sub>2</sub>) en la cara interna de la membrana plasmática para generar fosfatidilinositol trifosfato (PIP<sub>3</sub>), creando un sitio de anclaje para la fosforilación de la quinasa Akt. Esta proteína kinasa es activada por PDK1 y PDK2, las cuales le transfieren grupos fosfato del PIP<sub>3</sub> en residuos de serina y treonina específicos.

Akt activa desencadena una cascada de señalización que desactiva al complejo TSC<sub>1</sub>/TSC<sub>2</sub>, favoreciéndose el estado activo de la proteína G monomérica Rheb (Rheb-GTP). La proteína mTOR se encuentra activa cuando está unida a Rheb-GTP, por tanto la activación de Akt por la vía PI3K tiene como resultado la activación de mTOR (**Fig. 3**).

mTOR activa es capaz de fosforilar e inactivar una proteína, eIF4E-BP1, que actúa como inhibidor del factor de elongación eIF4E. La inhibición de eIF4E-BP1 permite la actividad del factor de elongación eIF4E, favoreciendo la traducción de proteínas necesarias para la progresión del ciclo celular.

mTOR también puede activar la kinasa S6K (S6K1), que actúa sobre la proteína ribosomal S6 induciendo la síntesis proteica, y por tanto, estimulando el crecimiento celular (aumento en masa). Por otro lado, mTOR estimula la transcripción de genes, entre ellos los que codifican para proteínas ribosomales, con lo que se incrementa también por este camino el crecimiento celular.

### ¿Por qué se utiliza mTor como diana molecular para la terapia dirigida contra distintos tipos de tumores?

Las células tumorales se caracterizan, entre otras cosas, por presentar un metabolismo celular alterado que les permite un crecimiento y proliferación acelerados. En este sentido, la señalización a través de la vía de mTor suele estar incrementada de manera aberrante en la mayoría de los síndromes tumorales y cánceres esporádicos. Se ha demostrado que la activación de mTor es suficiente para inducir la glicolisis y activar el metabolismo oxidativo, además de activar la lipogénesis, procesos todos muy importantes en la biología del tumor. Además, la vía mTOR alterada produce un aumento descontrolado del crecimiento y proliferación celulares.

En el síndrome genético conocido como esclerosis tuberosa (TS), los pacientes presentan mutaciones en los genes TSC<sub>1</sub> y TSC<sub>2</sub> activadores directos de mTor (ver **Fig. 3**). Estos pacientes presentan múltiples tumores, inicialmente benignos, en distintos tejidos, entre ellos astrocitomas subependimarios de células gigantes (SEGA) en el cerebro.

### Utilización de Everolimus en clínica

Everolimus es un inhibidor selectivo de mTOR. La inhibición de la vía de señales mTOR interfiere con la traducción y síntesis de proteínas reduciendo la

actividad de S6K1 y del factor de elongación eucariótico 4EBP-1, el cual, regula las proteínas implicadas en el ciclo celular, la angiogénesis y la glucólisis. Por tanto el Everolimus es un inhibidor potente del crecimiento y proliferación de las células tumorales.

El Everolimus se usa actualmente para tratar el carcinoma de células renales (RCC) avanzado. También se usa en pacientes con TS que presentan SEGA y en tumores cerebrales pediátricos. Recientemente la utilización de Everolimus en combinación con otros fármacos ha sido aprobada para tratar tumores pancreáticos neuroendocrinos ya que se ha demostrado que la combinación retrasa la progresión de estos tumores en un 50%.

### **Pequeñas moléculas inhibidoras de kinasas citoplásmicas contra la leucemia mieloide crónica (LMC): Gleevec**

El Gleevec fue la primera terapia dirigida diseñada y utilizada. El diseño del Gleevec fue la consecuencia de un conocimiento profundo de los eventos moleculares que originan la leucemia mieloide crónica (LMC). La LMC es una de las neoplasias hematológicas humanas más frecuentes y la de peor pronóstico. Es una enfermedad bifásica. Primero cursa con una fase crónica, relativamente benigna, la cual desemboca irremediablemente en una crisis blástica letal. La enfermedad se define como un trastorno de naturaleza clonal con origen en una célula troncal hematopoyética (HSC) cuya característica molecular es el cromosoma Philadelphia (Ph1) el cual codifica la proteína de fusión con actividad kinasa, BCR-ABL. El Gleevec es una pequeña molécula inhibidora de la actividad kinasa de esta proteína.

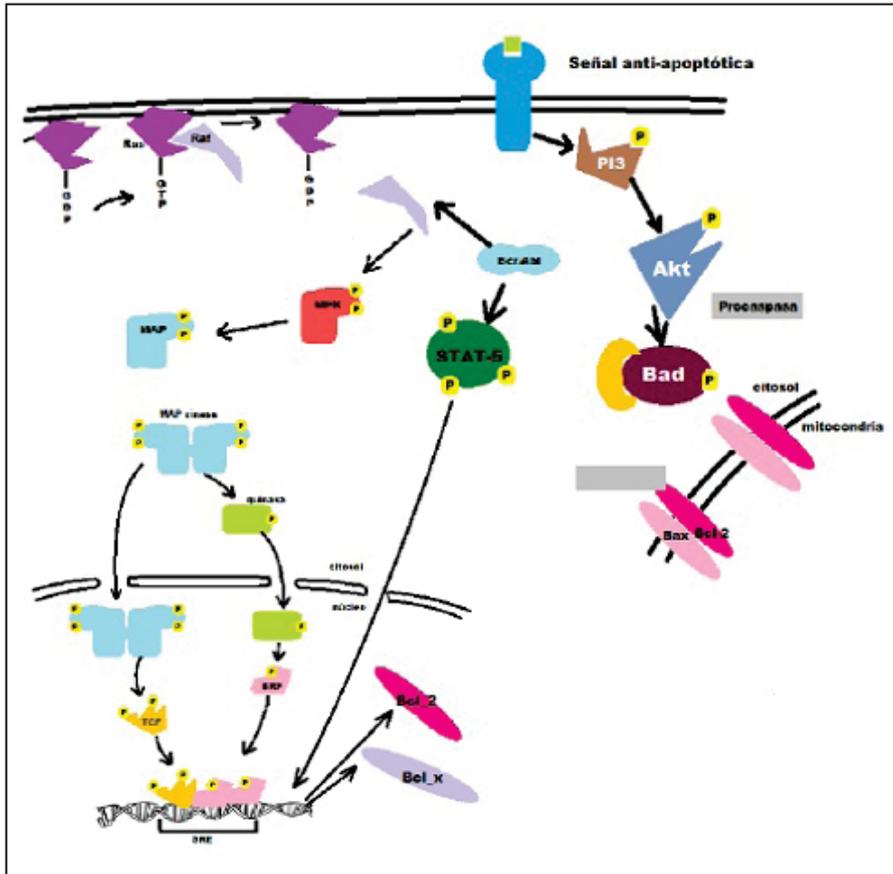
#### ¿Por qué se utiliza BCR-ABL como diana molecular para la terapia dirigida contra la LMC?

La génesis de la LMC se asocia, en el 95% de los casos, a una anomalía genética, el cromosoma Ph1, el cual es el resultado de la translocación de los cromosomas 9 y 22. En el cromosoma 22 se encuentra el gen Bcr, y en el cromosoma 9, el gen Abelson (Abl). Cuando una parte de este último gen se transfiere y se inserta dentro del gen Bcr, se origina el gen de fusión BCR-ABL.

La proteína de fusión generada, BCR-ABL, es una proteína con actividad tirosina kinasa citosólica que está activada constitutivamente debido a la pérdida de su secuencia reguladora durante la translocación. Esta activación constante tiene como consecuencia la alteración de determinadas vías de señalización celular como son los mecanismos que regulan la proliferación, muerte y diferenciación celular. La des-regulación conjunta de estos mecanismos celulares desemboca en la fase crónica de esta enfermedad.

La alteración de la regulación de la proliferación se debe a que la kinasa

BCR-ABL activa continuamente, y sin necesidad de ligando externo, la vía de las MAPK, antes mencionadas (**Figs. 2 y 4**). Esta activación constitutiva tiene como consecuencia una proliferación continua de las células progenitoras hematopoyéticas que poseen esta alteración.



**Figura 4.** Vía de las MAPK, activada por BCR-ABL.

BCR-ABL también regula la supervivencia celular de las células progenitoras hematopoyéticas que lo expresan mediante la activación constitutiva de vías que inhiben la muerte celular o apoptosis.

La apoptosis se puede definir como una muerte celular programada efectuada por la actividad de unas proteasas, denominadas Caspasas. Estas caspasas se producen como zimógeno inactivo (pro-caspasa) y tienen que ser activadas por proteólisis. La apoptosis puede ser inducida por una vía intrínseca o vía mitocondrial, en la cual la activación de las Caspasas es dependiente de la liberación de Citocromo C de la mitocondria, o por una vía extrínseca, de la cual hablaremos más adelante.

La vía intrínseca de apoptosis se regula como un reostato que depende del equilibrio entre los niveles de proteínas pro-apoptóticas (Bax, Bad o Bid) y anti-apoptóticas (Bcl-2 o Bcl-x). En condiciones óptimas para la supervivencia celular, los niveles de las proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 o Bcl-x son altos, por

lo cual estos formarán hetero-oligómeros con Bax, inhibiendo su función. Cuando la célula recibe una señal pro-apoptótica, se produce un incremento en la expresión de genes pro-apoptóticos, entre ellos Bax, permitiéndose la homooligomerización de estos. Los oligómeros Bax-Bax formarán poros en la membrana mitocondrial lo cual permite la salida de Citocromo-C al citoplasma. Este desencadena la activación de las caspasas mediadoras de la muerte celular programada.

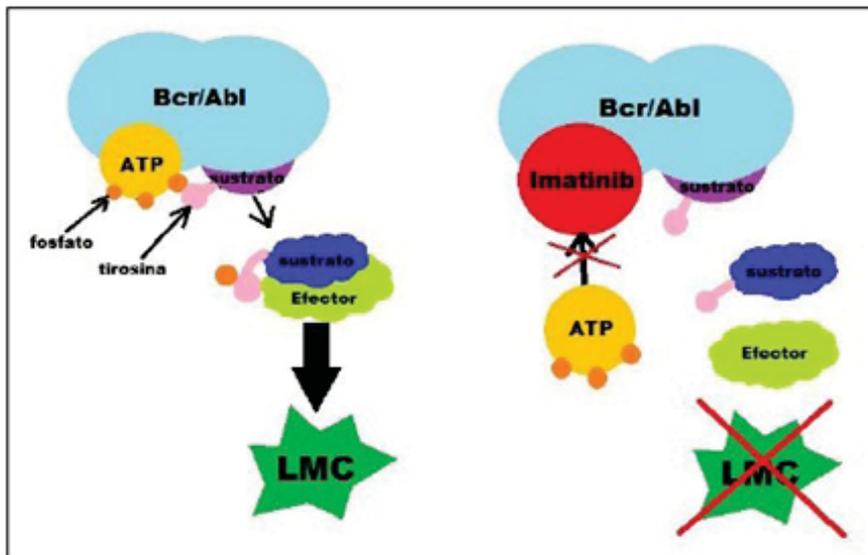
Este balance pro-apoptótico se refuerza con la proteína Bad, la cual se une a Bcl-2 o Bcl-x, impidiendo la formación de hetero-oligómeros entre estos y Bax. Sin embargo, en una célula que recibe señales anti-apoptóticas se activa Akt y esta fosforila a Bad. Bad fosforilado es secuestrado al citoplasma y así incapacitado para unirse a Bcl2. Bcl2, ahora libre, es capaz de formar hetero-oligómeros con Bax impidiendo la formación de poros en la membrana mitocondrial y la salida del Citocromo-C al citoplasma, sin el cual las caspasas no pueden ser activadas y la célula sobrevive (**Fig. 4**).

BCR-ABL regula la muerte/supervivencia celular mediante la activación constitutiva de la enzima PI3K. La activación de esta enzima resulta en la fosforilación y activación de Akt, la cual fosforila múltiples dianas citoplásmicas. Entre ellas, la proteína pro-apoptótica Bad, inactivándola. Por tanto, en células que expresan BCR-ABL la fosforilación inhibitoria de Bad tiene como consecuencia la inhibición de la vía apoptótica intrínseca, y por tanto, incrementa la supervivencia de estas células (**Fig. 4**).

Así, en células progenitoras hematopoyéticas que expresan BCR-ABL la vía anti-apoptótica está activada constitutivamente tanto por la fosforilación inhibitoria de Bad, como por la transcripción excesiva de genes anti-apoptóticos, teniendo como consecuencia la resistencia a estímulos pro-apoptóticos. Esto, junto al incremento en la proliferación de estas células, resulta en un excesivo número de células mieloides en todos los estadios de maduración.

#### Diseño del Gleevec y su utilización en clínica

A principios de los 90, Brian Druker, Nicholas Lydon y Charles Sawyers se centraron en la búsqueda de un inhibidor molecular que se encargase de bloquear la actividad kinasa de BCR-ABL. Identificaron una molécula, denominada STI-571, Imatinib o Gleevec, capaz de bloquear la unión de ATP al sitio catalítico de BCR-ABL, evitando así la fosforilación y consecuente activación de la misma (**Fig. 5**). Este fármaco conseguía inhibir la proliferación de las células tumorales tanto in vitro como in vivo. Así, Gleevec no solo inhibe la proliferación celular, sino que induce a la apoptosis de las células tumorales sin afectar a las normales, carentes de esta proteína de fusión.



**Figura 5.** Esquema de actuación del fármaco Gleevec.

Gleevec recibió aprobación de la FDA en mayo de 2001. El Gleevec demostró ser más efectivo que el tratamiento estándar anterior:  $\alpha$ -interferon y citarabina, aumentó el índice de supervivencia total a los 7 años para los pacientes con LMC a casi el 90%. Sin embargo se ha encontrado un inconveniente, la eficacia de Gleevec se reduce con el tiempo debido a adquisición de mecanismos de resistencia, en la mayoría de los casos debido a mutaciones del gen BCR-ABL. Las mutaciones se dan en dos categorías: una que comprende mutaciones situadas directamente en el sitio de unión del fármaco al sitio catalítico y que evitan la unión, y otra que engloba a aquellas que se encuentran dispersadas a lo largo de la proteína y que podrían alterar la flexibilidad de la enzima BCR-ABL, bloqueando la entrada al Gleevec.

Para evitar este tipo de resistencias se han diseñado nuevos medicamentos similares a Gleevec como el Dasatinib o el Nilotinib. Ensayos clínicos de tratamientos con Dasatinib y Nilotinib como tratamientos de primera línea para la LMC, han demostrado que estos producen respuestas más rápidas y son más eficaces en un número mayor de pacientes en comparación con el Gleevec.

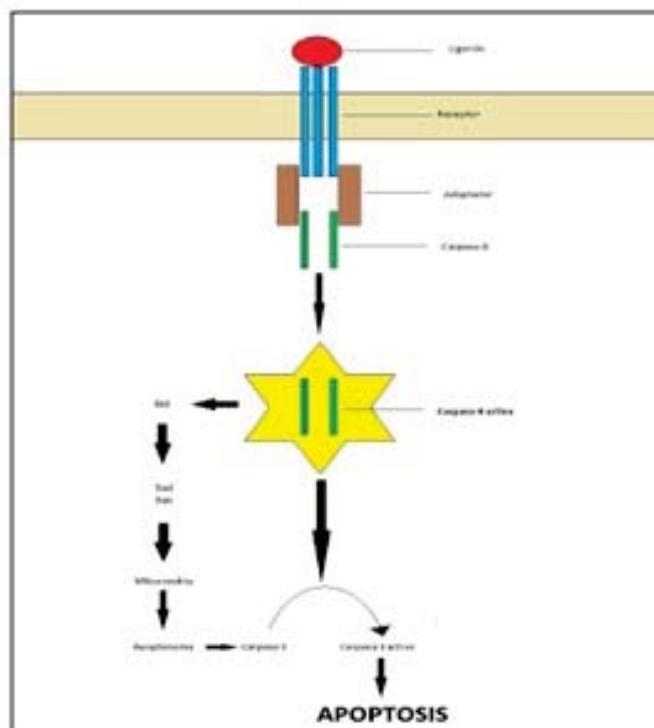
### **Terapias dirigidas que inducen apoptosis en células tumorales: Mapatumumab**

Una estrategia obvia para eliminar células tumorales es la inducción de apoptosis o muerte celular en las mismas. De hecho, la característica común de los cánceres curables, como el cáncer testicular, el teratocarcinoma, o ciertas leucemias, es que son sensibles a la inducción de apoptosis. Sin embargo, como se apuntaba anteriormente, la mayoría de las células tumorales son resistentes a

la inducción de apoptosis por agentes quimioterapéuticos. Por tanto la búsqueda de terapias dirigidas capaces de inducir apoptosis, de manera específica en células tumorales, es un objetivo importante en la industria farmacéutica. Un ejemplo del resultado de esta búsqueda es el Mapatumumab, un anticuerpo monoclonal agonista (induce la respuesta) del receptor de la muerte, TRAIL, que induce la muerte de células tumorales.

Como se comentó anteriormente, la apoptosis puede ser inducida por una vía intrínseca, o por una vía extrínseca, caracterizada por ser independiente de Citocromo C y activada mediante la unión de un ligando extracelular (señal pro-apoptótica) a los llamados receptores de la muerte.

La familia de receptores de la muerte incluye los receptores de ligandos como Fas, TNF (factor de necrosis tumoral) o TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand). Los miembros de esta familia están caracterizados por poseer un dominio intracelular denominado dominio de muerte (death domain, DD). Una vez unido el ligando al receptor se produce la oligomerización de receptores y la formación de un complejo de señalización inductor de muerte (death-inducing signalling complex, DISC) junto a proteínas adaptadoras, como TRADD o FADD. La procaspasa-8 inactiva es reclutada por FADD al complejo DISC, y por proximidad de varias moléculas, la actividad proteasa intrínseca de esta procaspasa es suficiente para cortar algunas moléculas y producir la caspasa-8 activa. Esta es liberada del DISC al citoplasma donde por proteólisis activará la procaspasa-3 (**Fig. 6**). La Caspasa-3 es la última responsable de la mayoría de los efectos apoptóticos resultando en la muerte celular.



**Figura 6.** Esquema de la activación de la procaspasa-3 en el citoplasma.

### ¿Por qué se utiliza TRAIL como diana molecular?

La activación de la vía intrínseca suele estar bloqueada en células tumorales por diversas alteraciones genéticas como falta de p53, activación constitutiva de Akt, sobreexpresión de genes anti-apoptóticos como Bcl-2, etc. Sin embargo, las células tumorales son mucho más sensibles a la muerte inducida por TRAIL que las células normales. Esto se debe a que las células normales, pero no las tumorales, producen un receptor “señuelo” que carece de dominio DD citosólico. Estos receptores señuelo pueden unirse a TRAIL pero no transducir su señal de muerte al interior celular. Estos datos sugieren que la activación de la vía extrínseca de la apoptosis por TRAIL podría ser una terapia dirigida específica para células tumorales.

### Diseño del Mapatumumab y su utilización en clínica

El Mapatumumab es un anticuerpo monoclonal agonista humano que induce directamente la muerte de células tumorales. Este fármaco reduce la viabilidad de múltiples tipos de células tumorales in vitro e induce la activación de las caspasas 8 y 3, indicando que la activación de los receptores TRAIL es suficiente para inducir apoptosis.

La administración in vivo de Mapatumumab dio lugar a una rápida regresión del tumor o a la represión del crecimiento tumoral en cáncer de pulmón no microcítico (conocido como cáncer de pulmón de células no pequeñas) y en tumores renales en modelos de xenoinjerto (heteroinjerto procedente de otra especie).

Tal y como demuestran los experimentos realizados, esta vía es una de las más prometedoras en la lucha contra el cáncer. Sin embargo, se necesita una mayor experimentación y estudio, y se mantienen expectativas de futuro en la combinación de varios fármacos para conseguir un mayor efecto, explotando ambas vías (intrínseca y extrínseca).

En resumen, podemos decir que las terapias dirigidas contra el cáncer ofrecen la posibilidad de personalizar el tratamiento del cáncer en función de las alteraciones moleculares presentes en cada paciente. Además, son tratamientos, en principio, más selectivos por lo que se reducen los efectos secundarios y se mejora la calidad de vida.

Sin embargo, las terapias dirigidas muestran ciertas limitaciones, siendo la principal el desarrollo de resistencias a estas terapias. Es por esto que se propone el uso de estas terapias dirigidas administradas en combinación con otras terapias dirigidas y/o en combinación con otros tratamientos tradicionales del cáncer.

## Bibliografía

- Artigas, C.G., Melo, A. et al. 2003. Transcritos de fusión del gen bcr-abl en pacientes con leucemia mieloide crónica. *International Journal of Morphology*. 21:205-209.
- Bumbea, H., Vladareanu, A.M. et al. 2010. Chronic myeloid leukemia therapy in the era of tyrosine kinase inhibitors - the first molecular targeted treatment. *Journal of Medicine and Life*. 3:162-166.
- Cervantes F. 2008. Leucemia mieloide crónica. *Medicina Clínica*. 131:658-659.
- Cohen, M.H., Moses, M.L. et al. 2002. Gleevec for the treatment of chronic myelogenous leukemia: US. Food and Drug Administration regulatory mechanisms, accelerated approval, and orphan drug status. *Oncologist*. 7:390-392.
- Daley, G.Q. 2003. Gleevec resistance: lessons for target-directed drug development. *Cell Cycle*. 2:190-191.
- Fakler, M., Loeder, S., et al. 2009. Small molecule XIAP inhibitors cooperate with TRAIL to induce apoptosis in childhood acute leukemia cells and overcome Bcl-2-mediated resistance. *Blood*. 113:1710-1722.
- Gaestel, M., Mengel, A. et al. 2007. Protein kinases as small molecule inhibitor targets in inflammation. *Current Medicinal Chemistry*. 14:2214-2234.
- Guertin D.A. y Sabatini D.M. 2005. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends in Molecular Medicine*. 11:353-361.
- Guertin, D.A. y Sabatini, D.M. 2007. Defining the Role of mTOR in Cancer. *Cancer Cell*. 12:9-22.
- Hail, N., Carter, B.Z, Konopleva, M. y Andreeff, M. 2006. Apoptosis effector mechanisms: A requiem performed in different keys. *Apoptosis*. 11:889-904.
- Lowe, S.W. y Lin, A.W. 1999. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*. 21: 485-495.
- Nagar, B. 2007. c-Abl tyrosine kinase and inhibition by the cancer drug imatinib (Gleevec/STI-571). *Journal Nutrition*. 137:1518S-1523S; discussion 1548S.
- Neviani, P., Santhanam, R. et al. 2007. FTY720, a new alternative for treating blast crisis chronic myelogenous leukemia and Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia. *The Journal of Clinical Investigation*. 117:2408-2421.
- Olayioye, M.A. 2001. Intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members. *Breast Cancer Research*. 3:385-389.
- O'Reilly, T., Vaxelaire, J., Muller, M. et al. 2002. In vivo activity of RAD 001, an orally active rapamycin derivative, in experimental tumor models. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*. 43:Abstr 359.

- Pukac, L., Kanakara, P., et al. 2005. HGS-ETR1, a fully human TRAIL-receptor 1 monoclonal antibody, induces cell death in multiple tumour types in vitro and in vivo. *British Journal of Cancer*. 92:1430-1441.
- Schmitt, C.A. y Lowe, S.W. 1999. Apoptosis and therapy. *Journal of Pathology*. 187:127-137.
- Schuler, W., Sedrani, R., Cottens, S. et al. 1997. SDZRAD, a new rapamycin derivative: pharmacological properties in vitro and in vivo. *Transplantation*. 64:36-42.