

INVESTIGACIÓN TRANSLACIONAL EN CÁNCER

TRANSLATIONAL RESEARCH IN CANCER

Carlos Suárez Nieto

*Director Científico de la Fundación de Investigación e Innovación Biosanitaria del
Principado de Asturias
Catedrático Emérito de Otorrinolaringología*

Avda. de Roma s/n, 33013 Oviedo. Tfno. 985108061

Domicilio privado: Cardenal Cienfuegos, 3, 9º B, 33007 Oviedo. Tfno. 985244845

Académico Correspondiente de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid

An Real Acad Med Cir Vall 2016; 53: 91-112

RESUMEN

La investigación translacional tiene como objetivo transferir los hallazgos de ciencias básicas a la clínica, proceso en el que los médicos deben jugar un papel primordial dentro de equipos multidisciplinarios. En lo que se refiere al cáncer, la aplicación de técnicas de ultrasecuenciación masiva está permitiendo caracterizar molecularmente los tumores, de forma que en un futuro se puedan aplicar terapias personalizadas a las alteraciones moleculares de cada paciente que constituyan una alternativa a los métodos convencionales. Igualmente, los avances en las tecnologías de imagen molecular posibilitarán la obtención de imágenes no invasivas de vías moleculares específicas que permitan un diagnóstico precoz de los tumores. Finalmente, tomando como modelo el cáncer de cabeza y cuello, se describen otras aplicaciones potenciales de la medicina molecular.

Palabras clave: Cáncer de cabeza y cuello, medicina molecular, investigación translacional, dianas moleculares, imagen molecular

ABSTRACT

Translational research aims to transfer the findings of basic sciences to clinical applications, a process in which physicians should play a leading role within multidisciplinary teams. With respect to cancer, the application of techniques of massive ultrasequencing is allowing the molecular characterization of tumors, so that in the future can be applied personalized therapies according to molecular alterations of each patient in order to represent an alternative to conventional therapies. Likewise, advances in molecular imaging technologies will enable the

production of non-invasive imaging of specific molecular pathways that allow early diagnosis of tumors. Finally, modeled on head and neck cancer, other potential applications of molecular medicine are described.

Key words: Head and neck cancer, molecular medicine, translational research, molecular targets, molecular image

INTRODUCCIÓN

La investigación translacional tiene como objetivo la traducción de descubrimientos básicos en estudios clínicos y estos en práctica clínica y toma de decisiones en los sistemas de salud. Se trata pues, de acortar el tiempo entre los hallazgos de ciencias básicas y su aplicabilidad a los pacientes con cualquier tipo de enfermedad. En su esencia está fomentar la interacción de las ciencias básicas y las clínicas por medio de grupos multidisciplinares, única forma de abordar los problemas complejos bajo esta perspectiva.

Es evidente que el desarrollo presente y futuro de la investigación médica va a depender de la aportación de numerosas disciplinas, pero en el momento actual vivimos una fase que podría denominarse etapa molecular de la medicina caracterizada por el conocimiento profundo de las alteraciones genómicas de un gran número de enfermedades, lo cual nos llevará en un plazo no muy largo de tiempo a inhibir el efecto de los genes alterados mediante agentes farmacológicos específicos, a prevenir la aparición de aquellas que sean hereditarias y a proveer nuevas pruebas diagnósticas basadas en mecanismos moleculares que permitan una detección precoz.

¿Cuál es el papel que deben jugar los médicos en este proceso?. Si bien el ejercicio de la medicina no es una actividad científica sino profesional, es indudable que el progreso de la Medicina es una actividad científica, por lo que son necesarios médicos con los conocimientos necesarios de ciencias básicas para establecer un diálogo con los investigadores básicos y captar posibles aplicaciones de las innovaciones que surjan en las ciencias básicas. Es incuestionable que la investigación repercute en una mejor asistencia. El modelo de Institutos de Investigación asociados a hospitales y a otros centros de investigación se ha seguido en los países que lideran la investigación en biomedicina, ya que los problemas clínicos se deben tratar de resolver mediante la investigación en el entorno hospitalario. Para ello, es necesario crear áreas de investigación en los hospitales y atraer a ellas a investigadores básicos cualificados que trabajen en una matriz multidisciplinaria con investigadores clínicos en la solución de problemas concretos. La formación científica reglada de estos médicos es un problema parcialmente resuelto en España, donde los contratos del Río Hortega y Joan Rodés sólo cubren parte de las necesidades, tanto formativas como de disponibilidad de profesionales cualificados en investigación clínico-básica. El desarrollo de una

carrera profesional que prime de forma importante investigar y un esquema organizativo distinto en determinados servicios de los hospitales son imprescindibles para que los investigadores clínicos adquieran una masa crítica importante dentro de la estructura hospitalaria.

ALTERACIONES GENÉTICAS DE LOS TUMORES

El genoma de un cáncer humano presenta numerosas alteraciones en los cromosomas, la cromatina y los nucleótidos. Estas alteraciones incluyen aberraciones irreversibles en la estructura del ADN y en el número de copias del mismo, pudiendo afectar a cientos de genes. De forma colectiva, estos cambios resultan en la activación o inhibición de diversos eventos biológicos que intervienen en la fisiopatología del cáncer, tales como el escape inmune, la angiogénesis, la evasión de supresores del crecimiento, las señales de proliferación mantenida, la inmortalización de las células, los factores promotores de la inflamación, la activación de la invasión y metástasis, la inestabilidad genómica, la resistencia a la apoptosis y la desregulación de la energía celular¹.

En la base de datos del Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) se han registrado 18.306 genes mutados en los diversos tumores, conteniendo un total de 2.002.811 mutaciones codificantes diferentes. Además, se han registrado 10.534 fusiones de genes, 61.299 reordenamientos de genes, 695.504 segmentos de número de copias anormales y 60.119.787 variantes de expresión anormales². En los tumores sólidos más comunes, existen por término medio entre 40-70 genes mutados, consistiendo el 95% de las mutaciones en una sustitución de una base por otra, mientras que las restantes son deleciones o inserciones de unas pocas bases. La inmensa mayoría de las sustituciones de una base son de tipo missense. Algunos tipos de tumor desarrollan un número de mutaciones mucho mayor, como los melanomas y tumores de pulmón, que tienen en torno a 200, mientras que otros como los pediátricos y las leucemias presentan menos de 10 mutaciones³. Excepcionalmente, algunos tumores con desajustes en los mecanismos de reparación del ADN pueden contener miles de mutaciones. La inmensa mayoría de las mutaciones son una consecuencia de la ausencia de apoptosis de la célula tumoral y, por tanto, epifenómenos acompañantes sin relevancia en la génesis del tumor. Sólo un pequeño número de mutaciones de algunos genes son “driver” o conductoras, poniendo en marcha los mecanismos que llevan al desarrollo del tumor. La mejor manera de identificar un gen “driver” es a través del patrón de mutación, más que por la frecuencia en que el gen está mutado. Para ser clasificado como oncogén “driver” se requiere que >20% de las mutaciones registradas en el gen estén en posiciones recurrentes y que sean de tipo missense. Para ser clasificado como un gen supresor de tumores, se requiere que >20% de las mutaciones registradas en el gen sean inactivadoras. Todos los genes “driver”

se pueden clasificar en una o más de 12 vías de señalización que confieren una ventaja selectiva para el crecimiento incontrolado de las células, que a su vez se pueden organizar en tres tipos de procesos celulares: factores que facilitan la supervivencia de las células tumorales, vías de señalización que favorecen la división sobre la diferenciación y alteración en los mecanismos de control del daño en el genoma³.

En los últimos 12 años se han producido grandes avances en oncología translacional, debidos en buena medida a la aplicación de técnicas de ultrasecuenciación masiva de gran velocidad y bajo coste para descubrir mutaciones somáticas y germinales y caracterizar los tumores. Dos grandes proyectos mundiales, el Cancer Genome Atlas y el International Cancer Genome Consortium, están próximos a completar el estudio de cientos de casos de cada uno de los tipos de tumor más frecuentes y están permitiendo la tipificación personalizada de los tumores.

TECNOLOGÍAS DE IMAGEN MOLECULAR

Los avances en las tecnologías de imagen molecular posibilitan la obtención de imágenes no invasivas de vías moleculares específicas involucradas en procesos patológicos, entrañando la visualización, caracterización y mensuración de los procesos biológicos a nivel molecular y celular. Se pueden utilizar varias de las señas de identidad del cáncer para detectar células malignas o tejidos, tales como los receptores de factores de crecimiento, el potencial replicativo ilimitado, la angiogénesis mantenida y el aumento de actividad proteolítica que culmina con la invasión tisular y metástasis. Las tecnologías de imagen molecular evalúan la firma molecular y los cambios en la fisiología celular y en la función más que en la anatomía. Estas vías moleculares se expresan antes que las deformaciones anatómicas, proporcionando una representación del proceso patológico. Además, la detección de tumores a través de su firma molecular puede mejorar significativamente la especificidad del diagnóstico. La transferencia de esta tecnología a la cirugía en tiempo real posibilita la cirugía guiada por la imagen molecular, proporcionando, por ejemplo, una mejor detección de los tumores y de sus dimensiones. La tecnología HistoScanning usa información de datos crudos ultrasonográficos dispersos que son procesados por algoritmos de caracterización tisular. Además de visualizar la lesión, proporciona imágenes anatómicas útiles para planificar la cirugía. Un avance en esta tecnología en cirugía urológica permite aumentar la capacidad de caracterizar los tejidos prostáticos en la proximidad de los haces neurovasculares. Las imágenes por difusión derivadas de la RMN pueden utilizarse para mapear la orientación de los axones usando la técnica DTI tractografía, que hace más visible los nervios⁴.

Existen también otras aplicaciones para el diagnóstico precoz de tumores que asientan en las mucosas del tracto aerodigestivo basadas en la autofluores-

encia natural o inducida con ácido 5-aminolevulínico, que revela las propiedades moleculares de los tejidos a nivel celular y subcelular, al igual que distintos tipos de espectroscopias (Raman y de luz dispersada), distinguiendo lesiones benignas de las malignas⁵.

Por otra parte, la imagen de banda estrecha (NBI) es una tecnología de mejora de la imagen óptica que acentúa la visibilidad de los vasos y otros tejidos de la superficie de las mucosas. La iluminación NBI es intensamente absorbida por la hemoglobina y penetra solamente en la superficie de los tejidos, aumentando el contraste entre ambos. Como resultado, bajo la iluminación NBI, los capilares de la superficie de la mucosa se visualizan en color marrón-verdoso en el monitor, mientras que las venas de la submucosa aparecen en color azul brillante. Resulta especialmente útil en la detección del tumor primario en metástasis de origen desconocido⁶.

Igualmente, en un futuro no muy lejano el pleno desarrollo de las posibilidades de la nariz electrónica (N-E) jugará un papel importante en la detección de tumores como técnica de cribado. La N-E tiene diferentes sensores electroquímicos para captar compuestos orgánicos volátiles, no identificando compuestos químicos como la cromatografía de gas o la espectrometría de masas, sino una firma olfativa propia de cada tumor⁷. Se ha comprobado que existe una correlación entre los compuestos orgánicos volátiles en cultivos celulares y en el aliento del paciente.

Un método emparentado es la espectrometría de movilidad iónica en campos asimétricos, que usa diferencias en la movilidad de moléculas ionizadas en campos eléctricos, produciendo una firma de movilidad similar a la olfativa.

Finalmente, existen estudios preliminares con un radiotrazador PET para dar imágenes de radicales libres en tumores de modelos animales y en breve se incorporarán a la TC capacidades analíticas para conocer características fenotípicas de los tumores. De esta forma, las firmas de imagen se podrán asociar con características biológicas y genéticas de los tumores, particularmente la heterogeneidad intratumoral y la proliferación.

TERAPIA BASADA EN DIANAS MOLECULARES

Fundamentos

Desde hace ya cierto tiempo el hallazgo de mutaciones de receptores tirosinquinasa en muchos tumores posibilitó el desarrollo de inhibidores específicos. Así, los pacientes con mutaciones en el gen que codifica el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se pueden tratar con gefitinib o erlotinib^{8,9}; aquellos con translocation BCR-ABL, con mesilato de imatinib (10); y aquellos con amplificación del oncogen ERBB2 (también llamado HER2 or NEU), con trastuzumab o lapatinib¹¹. De esta forma, se han ido implementando tests diag-

nósticos de rutina para seleccionar la terapia de pacientes con diversos tipos de tumores.

En paralelo a estos descubrimientos, el estudio de mutaciones germinales ha permitido identificar a personas en riesgo de padecer un cáncer transmitido por vía hereditaria. Así, las mutaciones de TP53 se asocian al síndrome de Li-Fraumeni; las mutaciones en BRCA1 o BRCA2 indican un riesgo aumentado de cáncer de mama y ovario; las mutaciones en genes cuyos productos están involucrados en la reparación de los desajustes del ADN (como MLH1, MSH2 o MSH6) están asociados con el cáncer colorrectal hereditario¹².

No sólo es necesario el estudio del genoma, pues está claro que las modificaciones del epigenoma tienen una importante contribución a la formación y desarrollo de los tumores, sobre todo en fases precoces, al silenciar genes e impedir su expresión.

Otro punto a tener en cuenta es la heterogeneidad del tumor primario y de sus metástasis en el mismo paciente, por lo cual las alteraciones genéticas pueden ser diferentes en distintos puntos del mismo. La hipótesis de las células madre del cáncer provee un modelo que puede explicar la heterogeneidad de los tumores, pudiéndose entender como un proceso dinámico regulado por el microambiente más bien que un concepto estático. El estudio de las células madre del cáncer y el microambiente tumoral puede tener implicaciones clínicas al estar dichas células implicadas en las recidivas y en la resistencia a la quimioterapia^{13,14}.

Igualmente es cada vez más relevante el análisis de células y ADN circulante, que nos informa no sólo de la carga tumoral y monitoriza la respuesta al tratamiento, sino que servirá para el desarrollo de modelos tumorales individualizados a partir de ellas con la finalidad de realizar estudios prospectivos de la eficacia de distintas dianas moleculares¹⁵.

Modelos animales de cáncer

Como se ha expuesto, el primer paso para poder llegar a tratamientos individualizados del cáncer es la caracterización molecular de los tumores. El siguiente paso debe consistir en mejorar los modelos de tumores experimentales en los que ensayar nuevas dianas terapéuticas moleculares. Desde hace más de 30 años se venían utilizando ratones inmunodeficientes a los que se inoculaban líneas celulares establecidas como xenotransplantes sobre los que ensayaba el efecto de distintos fármacos. Sin embargo, este modelo se ha probado poco eficaz en la predicción de la eficacia específica antitumoral en los distintos tipos histológicos de cáncer. Para solventar estas carencias, en los últimos 10 años ha adquirido un gran desarrollo la creación de ratones modificados genéticamente, en los que se programa una mutación “driver” organoespecífica que no sólo conduce a que se desarrolle el proceso de carcinogénesis en un animal inmuno-competente, sino

que además se pueden realizar estudios sobre agentes terapéuticos dirigidos contra las alteraciones genéticas inducidas¹⁵. Una vez que el ratón haya desarrollado el tumor en el órgano diana, este se puede transplantar de forma ortotópica o heterotópica a un gran número de ratones singénicos inmuno-competentes, aumentando así las posibilidades de examinar los efectos de agentes terapéuticos dirigidos molecularmente.

También en los últimos 10 años se han desarrollado ratones altamente inmuno-deficientes en los que está bloqueada la maduración de las células killer, lo que facilita prenda los aloinjertos tumorales, en este caso no de líneas celulares tumorales establecidas, sino directamente de la implantación de xenoinjertos derivados de pacientes, con especímenes tumorales quirúrgicos, de biopsias o de células circulantes, lo que tiene la ventaja de llevar estroma del tumor, facilitando un entorno más adecuado para los ensayos preclínicos (Fig. 1).

Inhibidores específicos

Como se ha dicho anteriormente, el hallazgo de determinadas mutaciones en numerosas clases de tumor ha posibilitado el desarrollo de inhibidores específicos, ya sean anticuerpos monoclonales o pequeñas moléculas. Como resulta lógico pensar, antes de instaurar un tratamiento es necesario realizar una predicción genómica de la eficacia terapéutica, de forma que, por ejemplo, sólo se administre trastuzumab en aquellos tumores de mama que sobreexpresan HER2, gefitinib en adenocarcinomas de pulmón que presenten mutaciones específicas de EGFR, o bien inhibidores de PARP en tumores de mama u ovario con mutaciones en BRCA1-2. En ocasiones, la resistencia del tumor por activación de vías alternativas o bien la existencia de heterogeneidad del tumor pueden hacer necesarias terapias combinadas.

Carcinomas de pulmón

A modo de ejemplo de la importancia de tipificar molecularmente los tumores para aplicar terapias inhibitoras específicas, se expondrán algunos casos concretos. Dentro de los carcinomas de pulmón no microcíticos, más del 40% tienen mutaciones “driver” en EGFR, KRAS o ALK, de las que las primeras son las más frecuentes. En un porcentaje similar no se conocen todavía los eventos que han dado origen al tumor, mientras que en un 9-14% de los adenocarcinomas y un 16-30% de los carcinomas epidermoides las alteraciones oncogénicas son relativamente raras (menos del 3% cada una de ellas), pero se dispone de inhibidores tirosinquinasa potencialmente activos (16) (Fig. 2).

Hace ya cierto tiempo que se observó que los pacientes con mutación del EGFR se benefician de tratamientos con inhibidores tirosinquinasa, observándose en el primer estudio multicéntrico con gefitinib que la supervivencia libre de

enfermedad, la supervivencia media y la tasa de supervivencia a un año eran 6,5 meses, 17,8 meses y un 63%, respectivamente¹⁷. Como ocurre frecuentemente con las terapias moleculares pueden aparecer resistencias, que deben genotiparse para identificar los mecanismos de resistencia y seleccionar el tratamiento más adecuado. Las resistencias se desarrollan sobre todo secundariamente a la mutación T790M en el exón 20 del EGFR y requieren el uso de inhibidores de tercera generación como rociletinib, el uso combinado de afatinib y un anticuerpo monoclonal anti-EGFR como el cetuximab, o bien otros inhibidores (Fig. 3).

La tipificación de las mutaciones del EGFR es indispensable, ya que cuando no las hay la administración de inhibidores tirosinquinasa se asocia con peor supervivencia que si se utiliza quimioterapia⁽¹⁸⁾.

Los reordenamientos del gen ALK están presentes en el 3-7% de los pacientes con carcinomas de pulmón no microcítico y muestran una tasa de respuesta del 65% con crizotinib, comparada con el 20% de la quimioterapia. La supervivencia media libre de progresión en el grupo de crizotinib fue de 7,7 meses y de 3 meses en el de quimioterapia¹⁹ (Fig. 4). Otro inhibidor utilizado en los reordenamientos del gen ALK es el ceritinib, con el que se ha obtenido una tasa de respuesta en torno al 60%, incluso en los que desarrollan resistencia al Crizotinib, y una supervivencia media libre de progresión de 7 meses²⁰.

Otros oncogenes potencialmente accionables mediante dianas moleculares están alterados entre el 1-3% de los casos, incluyendo inserciones HER2, mutaciones BRAF y PIK3CA, así como reordenamientos RET y ROS1 (16).

Cáncer de mama y ovario

Un tipo de tumor en el que los tratamientos con dianas moleculares han supuesto un avance notable está representado por el cáncer de mama, donde el trastuzumab añadido a la quimioterapia se asoció a una mayor tasa de respuesta (50% vs. 32%, $P < 0.001$), mayor supervivencia media (25,1 vs. 20,3 meses; $P = 0.01$), y una reducción del 20% en el riesgo de muerte²¹, sin que se observen diferencias significativas en eficacia entre distintos regímenes de quimioterapia con trastuzumab, que son superiores a la quimioterapia sola.

Por otra parte, el trastuzumab emtansine (T-DM1) prolonga de forma significativa la supervivencia libre de enfermedad y la total en relación a lapatinib + capecitabine (30,9 vs. 25,1 meses; $P < 0.001$) en las pacientes con tumor de mama avanzado HER2-positivo²².

Aproximadamente un 10% de los tumores malignos no se produce como resultado de mutaciones somáticas en respuesta a un daño celular inducido por diversos agentes, sino que se genera por mutaciones germinales transmitidas de forma hereditaria. La identificación de los genes responsables tiene una importancia capital a la hora de poder detectar los miembros de la familia que han he-

redado la alteración genética y, eventualmente, desarrollar medidas preventivas o terapéuticas. Un caso paradigmático son los tumores de mama y ovario originados por mutaciones germinales del gen BRCA1/2. En las células normales la vía de reparación de DNA por recombinación homóloga (RH) se activa en respuesta a roturas del DNA, pero en las células con deficiencias en BRCA1/2 se activan otras vías de reparación, como la vía de reparación de la excisión de bases (EB), con lo que la célula no entra en apoptosis. La disfunción de la vía RH se puede explotar como estrategia terapéutica por el uso de inhibidores de poli (ADP-ribose) polimerasa (PARP), que inhiben las proteínas PARP 1/2, que forman parte de la vía de reparación de EB, con lo que se produce el fenómeno denominado “synthetic lethality”, que explica los efectos letales de la combinación de la disfunción de las vías de reparación RH y EB, mientras que por separado no son letales para las células tumorales.

La incidencia de mutación germinal BRCA1/2 en los tumores de mama y ovario está entre el 5-10% de todos los casos y, en general, presentan mejor supervivencia que el resto de los tumores de ambas localizaciones por tener mayor sensibilidad al platino. Sin embargo, el 80% de los tumores de mama BRCA+ son triple negativos a receptores hormonales y HER2, con lo que sólo sería posible la quimioterapia, a la que algunos tumores no responden o desarrollan resistencia. De ahí la importancia de disponer terapias basadas en dianas moleculares, tales como los inhibidores PARP (olaparib, veliparib, rucaparib), que ofrecen una actividad prometedora en monoterapia o asociados a quimioterapia en tumores BRCA+, incluso en cánceres esporádicos con defectos en las vías de reparación del ADN, como los de próstata, endometrio y páncreas. Se ha publicado recientemente que el olaparib utilizado como terapia de mantenimiento en recidivas de carcinomas de ovario sensibles al platino, casi triplicaba en relación al placebo la supervivencia libre de progresión (11,2 vs 4,3 meses) y reducía en un 65% el riesgo de progresión de la enfermedad ²³ (Fig. 5). No obstante, no todos los BRCA+ responden a los inhibidores PARP debido a mutaciones secundarias que restauran la vía de RH, por lo que en el futuro se deben definir los subtipos que pueden ser más beneficiados por iPARP y las combinaciones óptimas.

Obviamente, es de capital importancia, tanto en este caso como en otros tumores de transmisión genética, realizar un cribado de mutaciones germinales en la progenie de pacientes con cáncer de ovario o de mama debido a mutaciones del gen BRCA, así como adoptar en aquellos que sean BRCA+ medidas de consejo genético, estudios de imagen periódicos e incluso cirugía profiláctica.

Limitaciones de las terapias biológicas

Pese al amplísimo caudal de conocimientos adquiridos en la última década, las terapias biológicas están aún en sus comienzos y antes de que sean una alter-

nativa a los medios convencionales pasará bastante tiempo. Hay excepciones, como el mesilato de imatinib, que ha sustituido al tratamiento estándar anterior en las leucemias mieloides crónicas y tumores del estroma gastrointestinal. La alta proporción de anomalías genéticas por pérdida de genes supresores es un obstáculo, aunque se pueda actuar sobre otros genes de la vía de señalización. Por otra parte, está el hecho de la población policlonal de los tumores, que debe ser conocida y requeriría el uso de terapias combinadas. Como se ha dicho, existen vías alternativas de escape y creación de resistencias, lo que hace que en muchos casos sólo se prolongue la supervivencia un período limitado de tiempo, generalmente en combinación con otras terapias. Dado el gran número de dianas moleculares existentes, la dificultad de reunir series importantes de pacientes y el tiempo que requiere la aprobación para uso clínico, hacen imperiosa la necesidad de desarrollar métodos de validación rápida, así como biomarcadores para la selección del tratamiento. Finalmente, y no menos importante, estas terapias tienen un precio extremadamente alto en relación al beneficio que cabe esperar de ellas, por lo que es urgente redimensionar los costes del tratamiento.

En cualquier caso, estamos en el umbral de un cambio de paradigma terapéutico, en el que los rasgos moleculares comunes de diferentes tumores determinarán mejor las actuaciones clínicas que las clasificaciones basadas en el órgano, de forma que la comparación entre tumores de diferente localización, pero con similares características moleculares, mejorará el abordaje terapéutico y el conocimiento de la biología tumoral.

TERAPIA DE BASE INMUNE

Es sabido que en fases precoces muchos tumores se pueden eliminar por mecanismos inmunes, siendo la evasión a la acción de estos mecanismos uno de los factores que favorecen el desarrollo incontrolado de un tumor. Después de muchos años de resultados decepcionantes, los últimos avances en inmunoterapia hacen de ella una de las armas más prometedoras para el tratamiento del cáncer. El atractivo de la inmunoterapia subyace en que constituye un abordaje específico de efectos tóxicos muy reducidos al basarse en mecanismos de acción fisiológicos. Además, sus efectos pueden ser perdurables a través del desarrollo de la memoria inmune. A continuación se citarán brevemente las estrategias de terapia inmune más importantes.

Bloqueo de los puntos de control inmune

Los tumores suprimen la respuesta inmune de las células T tumor específicas expresando ligandos que se unen a receptores inhibidores de las células T y anulan sus funciones. Uno de estos receptores inhibidores es CTLA-4, que se puede convertir en diana del bloqueo de las vías inhibidores del sistema inmune

activadas por las células tumorales. Así, el Ipilimumab es un anticuerpo anti-CTLA-4 que revierte la inactivación de las células inmunes por el tumor y reduce el riesgo de recurrencia un 25% en melanomas en estadio III²⁴.

PD1 es un receptor inhibitor expresado por las células T estimuladas por un antígeno, cuya vía de señalización inhibe la proliferación de células T, la liberación de citoquinas y la citotoxicidad. El receptor PD1 se puede expresar sobre las células T, B o NK y se une a sus ligandos PD-L1 or PD-L2²⁵. El anticuerpo monoclonal anti-PD1 nivolumab ha mostrado respuestas clínicas que a veces son duraderas y persisten durante años. El anticuerpo monoclonal anti-PD1 atezolizumab ha inducido también respuestas en numerosos tipos de carcinomas, como pulmón, colon, estómago, cabeza y cuello, además del melanoma y carcinoma renal. El pembrolizumab y nivolumab han sido aprobados para el tratamiento del melanoma y el carcinoma pulmonar no microcítico, mientras que el nivolumab se ha aprobado también para el carcinoma renal²⁶.

Terapia celular adoptiva

Es una prometedora forma de inmunoterapia que explota las propiedades antitumorales de los linfocitos para erradicar las células tumorales primarias y metastásicas. Para ello, se usan linfocitos que infiltran el tumor, generalmente mezclas de células T CD8+ y CD4+, que son cultivadas y expandidas antes de transferirlas, con lo que revierten la supresión de las células T promovida por el tumor. Los resultados mejoran con la eliminación de las células supresoras de origen mieloide (CSOM), que forman como un escudo que impide a los linfocitos reconocer a las células tumorales, lo que se puede llevar a cabo mediante marcado de las CSOM con péptidos portadores de anticuerpos mediante ligandos específicos, o bien con agentes como el paclitaxel y el 5-fluorouracilo²⁶.

Vacunas

Además del exitoso empleo de vacunas preventivas contra enfermedades infecciosas que pueden causar cáncer, como la hepatitis B y el papilomavirus humano, el hecho de que los pacientes tengan células T CD8+ y CD4+ capaces de reconocer antígenos tumorales, abre la posibilidad de desarrollar vacunas contra el cáncer. Hay dos tipos de vacunas que se están ensayando: vacunas del tumor completo y vacunas basadas en antígenos tumorales específicos. Las primeras tienen la ventaja de exponer al sistema inmune a una miríada de antígenos tumorales. Las mutaciones son extrañas al sistema inmune, constituyendo antígenos tumorales específicos que se pueden incorporar a plataformas para onco-inmunoterapia: vacunas con el péptido mutante, virus codificando los péptidos mutantes, células dendríticas presentando el péptido mutado. Con algunas de ellas se ha conseguido un aumento de la supervivencia en ciertos tipos de tumor, por lo

que han sido aprobadas para el uso clínico, como el sipuleucel-T en el cáncer de próstata, el melanoma-associated antigen-A3 (MAGE-A3) para el melanoma y algunos tumores de pulmón no microcíticos^{25,26}.

APLICACIONES DE LA MEDICINA MOLECULAR EN EL CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO

Recientemente el consorcio The Cancer Genome Atlas ha publicado sus primeros resultados basados en la ultrasecuenciación del genoma de 279 carcinomas epidermoides de cabeza y cuello (27), en los que se tipifican los cambios genéticos de los tumores originados por infección por el virus del papiloma humano de forma separada de los que lo hacen a causa de hábitos tóxicos (alcohol y tabaco). De esta forma, se ha establecido un mapa de las alteraciones genéticas (mutaciones, amplificaciones, deleciones), así como cuantificado las vías de señalización y los factores de transcripción desregulados. En la mayor parte de los tumores se han podido esclarecer las alteraciones genéticas “driver” y las posibles alternativas terapéuticas moleculares, lo que abre interesantes perspectivas de cara al futuro.

Son múltiples las aplicaciones potenciales de la medicina molecular en el cáncer de cabeza y cuello, si bien muchas de ellas están en una fase incipiente.

Detección precoz de los tumores

Una de ellas es la identificación de alteraciones genéticas precoces en la tumorigénesis en fluidos del órgano afectado por el tumor, como es el caso de la saliva. Así, se han detectado mutaciones de P53 (60-80%), microsatélites en las regiones cromosómicas 3p, 9p, 17p y 18q (80%), metilación de promotores (p16, MGMT) (65%), aumento de actividad de la telomerasa (90-100%), expresión aberrante de los canales de potasio hEAG1 y HERG1 (79-83%), set de genes a través de perfiles de expresión génica (91%). Todo esto abre la posibilidad de realizar una detección precoz en individuos con riesgo alto de cáncer de esta localización y para el seguimiento de pacientes tratados de cáncer. No obstante, por el momento presenta las limitaciones de la dificultad de crear una prueba sensible para uso clínico, pues en no todos los tumores se pueden identificar estas alteraciones genéticas. Además, la existencia de alteraciones moleculares en la saliva no indican el origen del tumor y, por el momento, existen problemas técnicos y de coste para convertirlo en una herramienta de uso diario.

Marcadores de progresión

Otro aspecto interesante es determinar el riesgo de progresión de las lesiones premalignas a cáncer invasivo. Actualmente, la clasificación de displasias todavía es el factor pronóstico tradicionalmente utilizado, pero no tiene un gran valor predictivo y es un método subjetivo, altamente dependiente del patólogo

que examina la pieza. Es plausible que el uso de marcadores moleculares puede mejorar la fiabilidad del pronóstico. Así, la expresión intensa de cortactina (CTTN/EMS1), proteína del citoesqueleto que liga la actina y promueve la motilidad e invasión, se asocia con progresión maligna en un alto número de lesiones laríngeas premalignas, al igual que ocurre con la sobre-expresión de FAK, otra molécula de adhesión celular^{28,29}, procedimientos validados por nuestro grupo y convertidos en rutina clínica (Fig. 6). La podoplanina y los canales de potasio Kv3.4 y HERG1 también son indicadores de un alto riesgo de progresión a cáncer invasivo³⁰⁻³².

Virus del papiloma humano en el cáncer de cabeza y cuello

El virus del papiloma humano tipo 16 (VPH) tiene un importante papel en el desarrollo de un subgrupo de cánceres de cabeza y cuello, principalmente en la orofaringe, que presentan unas características diferenciadas de los originados por factores tóxicos en cuanto a sus alteraciones genéticas, edad de presentación más joven, distinto patrón de diseminación, mayor sensibilidad a la quimiorradioterapia y mejor pronóstico que los VPH negativos³³. Una de las características de los tumores VPH+ es la sobre-expresión de la proteína reguladora del ciclo celular p16 por inactivación de pRb, que se utiliza como marcador para, en caso de positividad, realizar la detección directa del VPH mediante PCR³⁴. Dadas las implicaciones terapéuticas y pronósticas, el uso de p16 como marcador de un tipo de tumor cuya incidencia va en aumento ha supuesto un hito importante.

Marcadores de recidiva

Los carcinomas de cabeza y cuello suelen tener una zona de transición con cambios histológicos displásicos entre las células tumorales y el epitelio sano. A pesar de la apariencia histológica, éste puede presentar alteraciones moleculares que desemboquen en un tumor maligno, expresado en este caso por una recidiva. Así, la mutación de p53 en los bordes quirúrgicos histológicamente normales se correlaciona con el desarrollo de recidivas, de forma que estas se observaron en el 38% en los bordes con mutación de p53 y en el 0% de los casos sin mutación³⁵. Posteriormente se observó que la mutación en los bordes profundos tenía mayor valor predictivo que en los mucosos³⁶. Si la mutación de p53 se combinaba con pérdida de heterocigosidad en 9p, el valor predictivo aumentaba, con un hazard ratio superior a 7³⁷.

Marcadores de metástasis

Alrededor del 15% de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello tienen metástasis ganglionares que no se identifican por el examen histológico. El conocer su existencia redundaría en un mejor estadiaje de los pacientes, a la vez

que aumentaría la sensibilidad de la PAAF y la sensibilidad de la biopsia del ganglio centinela. Existen marcadores específicos tisulares expresados en el epitelio escamoso pero no en el tejido linfático (citoqueratinas 5 y 14, antígeno E48 (Ly-6D), antígeno del pénfigo vulgar, antígeno del carcinoma epidermoide, Ep-CAM) que proporcionan un 100 % de discriminación entre ganglios positivos y negativos, pero requieren secciones totales de cada uno de los ganglios y su inmunohistoquímica es muy laboriosa. Por ello, sería mucho más práctico usar una metodología basada en RT-PCR, con la que se pueden analizar todos los ganglios, habiéndose obtenido un 100% de valor predictivo con mRNA de citoqueratina 17 en metástasis >450 micras en el ganglio centinela³⁸, si bien todavía no se ha incorporado a la rutina clínica. Todos estos métodos requieren la extirpación previa de todos los ganglios cervicales o del ganglio centinela, por lo sería interesante disponer de un marcador que, sin necesidad de cirugía, permitiera conocer con exactitud el estadio ganglionar. Este método no existe, si bien se pueden realizar predicciones con cierta aproximación a la realidad. De esta forma se ha visto que la sobre-expresión de la quinasa de adhesión focal y la pérdida de expresión de e-cadherina en las células tumorales (moléculas relacionadas con la adhesión celular) tiene un valor predictivo de la existencia de metástasis ganglionares en el 80% de los casos³⁹. Mediante perfiles de expresión génica por microarrays⁴⁰ se ha publicado una predicción exacta en el 100% de los ganglios negativos y del 77% en los positivos, con una media del 86%. No obstante, y en términos generales, los estudios de expresión génica se realizan con distintas plataformas y metodologías, constanding de cohortes pequeñas sin validación externa, y en el caso concreto que nos ocupa no se estudiaron todos los ganglios en cortes seriados para excluir micrometástasis, además de mezclar diferentes localizaciones del tumor primario, por lo que su validez es limitada.

En ciertas localizaciones se han observado proteínas específicas que favorecen el cruce de los capilares y la colonización del órgano, a la vez que señales del estroma tumoral similares a las de otro órgano seleccionan las células tumorales que metastatizan a ese órgano dando lugar a una firma metastática órgano-específica, como se ha comprobado en los carcinomas de mama con metástasis a pulmón (COX2 (PTGS2), EREG) y cerebro (alfa-sialiltransferasa, ligando HBEGF del EGFR)^{41,42}. Sin embargo, en los tumores de cabeza y cuello no se ha encontrado ninguna impronta genética predictiva mediante el estudio de los perfiles de expresión génica⁴³.

Marcadores pronósticos

El estadio TNM todavía es el paradigma pronóstico en cualquiera de las localizaciones tumorales. Como hipótesis cabría plantear si podría complementarse con marcadores moleculares que indicaran un mal pronóstico de forma más

precisa, e incluso que independientemente del estadio clínico se correlacionaran con el pronóstico de la enfermedad. Se ha comprobado que la sobre-expresión de determinados oncogenes como EGFR (ERBB1), ciclina D1, PTK2/FAK, se acompañan de un peor pronóstico que aquellos que presentan una expresión débil. De especial interés en el cáncer de faringe y laringe es la amplificación de CTTN/EMS1, que es un predictor pronóstico independiente de un valor superior al estadio N^{28,44} (Fig. 7). Existen genes supresores tumorales, como p27 y determinadas moléculas de adhesión, cuya pérdida de expresión se correlaciona con un mal pronóstico. De especial interés es la mutación de los genes supresores CTNNA2 y CTNNA3 que codifican las alfa cateninas, propiciando una mayor migración e invasividad. Los pacientes con mutación en CTNNA2/3 tienen 4 veces más probabilidades de morir cualquiera que sea su estadio⁴⁵. Por el contrario, pacientes con tumores doble positivos a p21 y P-S6 presentan una mejor supervivencia específica y una significativa menor tasa de recidivas que el resto de los fenotipos⁴⁶ (Fig. 8). Cualquiera que sea el caso, es improbable que un factor molecular determine el comportamiento de un tumor y que la compleja interacción entre oncogenes y genes supresores se pueda conocer por el análisis de unos pocos marcadores moleculares. Se precisa una visión global completa de los defectos moleculares en los carcinomas de cabeza y cuello para obtener una mejor predicción de la supervivencia que con los parámetros clínicos y patológicos mediante el establecimiento de un perfil individual molecular. Aún así, la supervivencia global está influenciada por factores clínicos y biológicos independientes del tumor.

CONCLUSIONES

En los últimos 10 años se han producido avances espectaculares en el conocimiento de las bases moleculares del cáncer, posiblemente el problema biológico de mayor complejidad. Se han dado, igualmente grandes pasos para establecer nuevas vías terapéuticas alternativas a los tratamientos tradicionales, pero aún debe pasar bastante tiempo para que esto sea una realidad operativa. La falta de relación entre coste/eficacia de los nuevos tratamientos debe llevar a unos precios más realistas y accesibles para los sistemas sanitarios. Entre tanto llega ese momento, se debe insistir en las medidas preventivas, ya que gran parte de los tumores se deben a factores que en buena medida se pueden evitar o reducir la exposición a los mismos. Un limitado número de genes “driver” y vías de señalización son responsables de la mayor parte de los cánceres, ofreciendo un potencial para el diagnóstico precoz, máxime teniendo en cuenta que los productos de estos genes pueden ser detectables mediante análisis de fluidos corporales, pero lamentablemente la industria tiene mayor interés en investigar drogas para la curación en lugar de métodos para el diagnóstico precoz. En este sentido también

ofrecen muchas posibilidades los estudios moleculares de imagen. El estudio de la relación entre influencias ambientales y alteraciones genéticas puede jugar un papel interesante con vistas a la prevención.

BIBLIOGRAFIA

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-74.
2. Forbes SA, Beare D, Gunasekaran P, Leung K, Bindal N, Boutselakis H, Ding M, Bamford S, Cole C, Ward S, Kok CY, Jia M, De T, Teague JW, Stratton MR, McDermott U, Campbell PJ. COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res* 2015;43 (Database issue):D805-11.
3. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz Jr LA, Kinzler KW. Cancer Genome Landscapes. *Science* 2013;339:1546-58.
4. Greco F, Cadeddu JA, Gill IS, Kaouk JH, Remzi M, Thompson RH, van Leeuwen FW, van der Poel HG, Fornara P, Rassweiler J. Current perspectives in the use of molecular imaging to target surgical treatments for genitourinary cancers. *Eur Urol* 2014; 65:947-964
5. Pandey R, Paidi SK, Kang JW, Spegazzini N, Dasari RR, Valdez TA, Barman I. Discerning the differential molecular pathology of proliferative middle ear lesions using Raman spectroscopy. *Sci Rep* 2015;5:13305.
6. Cosway B, Drinnan M, Paleri V. Narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E2358-67.
7. Capuano R, Santonico M, Pennazza G, Ghezzi S, Martinelli E, Roscioni C, Lucantoni G, Galluccio G, Paolesse R, Di Natale C, D'Amico A. The lung cancer breath signature: a comparative analysis of exhaled breath and air sampled from inside the lungs. *Sci Rep* 2015;5:16491.
8. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-2139.
9. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-1500.
10. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001;344:1031-7.

11. Pegram M, Slamon D. Biological rationale for HER2/neu (c-erbB2) as a target for monoclonal antibody therapy. *Semin Oncol* 2000;27:13-9.
12. Chin L, Gray JW. Translating insights from the cancer genome into clinical practice. *Nature* 2008;452:553-563.
13. Barcellos-Hoff MH, Lyden D, Wang TC. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis. *Nature Rev Cancer* 2013;13:511-518.
14. Llorente JL, López F, Suárez C, Hermsen MA. Sinonasal carcinoma: clinical, pathological, genetic and therapeutic advances. *Nature Rev Clin Oncol* 2014;11:460-472.
15. Doroshow JH, Kummar S. Translational research in oncology—10 years of progress and future prospects. *Nature Rev Clin Oncol* 2014;11:649-62.
16. Oxnard GR, Binder A, Janne PA. New Targetable Oncogenes in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:1097-104.
17. Inoue A, Kobayashi K, Usui K, Maemondo M, Okinaga S, Mikami I, Ando M, Yamazaki K, Saijo Y, Gemma A, Miyazawa H, Tanaka T, Ikebuchi K, Nukiwa T, Morita S, Hagiwara K; North East Japan Gefitinib Study Group. First-line gefitinib for patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring epidermal growth factor receptor mutations without indication for chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009;27:1394-400.
18. Lee JK, Hahn S, Kim DW, Suh KJ, Keam B, Kim TM, Lee SH, Heo DS. Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors vs Conventional Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer Harboring Wild-Type Epidermal Growth Factor Receptor. A Meta-analysis. *JAMA* 2014;311:1430-1437.
19. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn MJ, De Pas T, Besse B, Solomon BJ, Blackhall F, Wu YL, Thomas M, O'Byrne KJ, Moro-Sibilot D, Camidge DR, Mok T, Hirsh V, Riely GJ, Iyer S, Tassell V, Polli A, Wilner KD, Janne PA. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2013;368:2385-94
20. Shaw AT, Kim DW, Mehra R, Tan DSW, Felip E, Chow LQM, Camidge DR, Vansteenkiste J, Sharma S, De Pas T, Riely GJ, Solomon BJ, Wolf J, Thomas M, Schuler M, Liu G, Santoro A, Lau YY, Goldwasser M, Borralho AL, Engelman JA. Ceritinib in ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2014;370:1189-97
21. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783-92.
22. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, Pegram M, Oh DY, Diéras V, Guardino E, Fang L, Lu MW, Olsen S, Blackwell K; EMILIA Study Group. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012;367:1783-91.

23. Ledermann J, Harter P, Gourley C, Friedlander M, Vergote I, Rustin G, Scott C, Meier W, Shapira-Frommer R, Safra T, Matei D, Macpherson E, Watkins C, Carmichael J, Matulonis U. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N Engl J Med* 2012;366:1382-92.
24. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, Gonzalez R, Robert C, Schadendorf D, Hassel JC, Akerley W, van den Eertwegh AJ, Lutzky J, Lorigan P, Vaubel JM, Linette GP, Hogg D, Ottensmeier CH, Lebbé C, Peschel C, Quirt I, Clark JI, Wolchok JD, Weber JS, Tian J, Yellin MJ, Nichol GM, Hoos A, Urba WJ. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711-23.
25. Brahmer JR. Harnessing the Immune System for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 31. 2013
26. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer?. *BMC Medicine* 2016;14:73
27. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive genomic characterization of head and neck squamous cell carcinomas. *Nature* 2015;517:576-82.
28. Rodrigo JP, García-Carracedo D, García LA, Menéndez ST, Allonca E, González MV, Fresno MF, Suárez C, García-Pedrero JM. Distinctive clinicopathological associations of amplification of the cortactin gene at 11q13 in head and neck squamous cell carcinomas. *J Pathol* 2009; 217: 516-523.
29. Rodrigo JP, Álvarez-Alija G, Tirados Menéndez S, Mancebo G, Allonca E, García-Carracedo D, Fresno MF, Suárez C, García-Pedrero JM. Cortactin and focal adhesion kinase: novel markers of cancer risk in laryngeal premalignancy. *Cancer Prev Res* 2011;4:1333-41.
30. de Vicente JC, Rodrigo JP, Rodriguez-Santamarta T, Lequerica-Fernández P, Allonca E, García-Pedrero JM. Podoplanin expression in oral leukoplakia: tumorigenic role. *Oral Oncol* 2013;49:598-603.
31. Tirados Menéndez S, Rodrigo JP, Allonca E, García-Carracedo D, Álvarez-Alija G, Casado-Zapico S, Fresno MF, Rodríguez C, Suárez C, García-Pedrero JM. Expression and clinical significance of the Kv3.4 potassium channel subunit in the development and progression of head and neck squamous cell carcinomas. *J Pathol* 2010;221:402-410
32. Menéndez ST, Rodrigo JP, Álvarez-Teijeiro S, Villaronga MA, Allonca E, Vallina A, Astudillo A, Barros F, Suárez C, García-Pedrero JM. Role of HERG1 potassium channel in both malignant transformation and disease progression in head and neck carcinomas. *Mod Pathol* 2012;25:1069-1078
33. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tân PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, Lu C, Kim H, Axelrod R, Silverman CC, Redmond KP, Gillison ML. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010;363:24-35.

34. Rodrigo JP, Heideman DA, Garcia-Pedrero JM, Fresno MF, Brakenhoff RH, Diaz-Molina JP, Snijders PJF, Hermsen MA. Incidence trends of human papillomavirus-related oropharyngeal squamous cell carcinomas in northern Spain (1990-2009). *Int J Cancer* 2014;134:487-492
35. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Eby YJ, Koch WM, Goodman SN, Sidransky D. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995;332:429-35.
36. Huang X, Pateromichelakis S, Hills A, Sherriff M, Lyons A, Langdon J, Odell E, Morgan P, Harrison J, Partridge M. p53 mutations in deep tissues are more strongly associated with recurrence than mutation-positive mucosal margins. *Clin Cancer Res* 2007;13:6099-106.
37. Graveland AP, Golusinski PJ, Buijze M, Douma R, Sons N, Kuik DJ, Bloemena E, Leemans CR, Brakenhoff RH, Braakhuis BJ. Loss of heterozygosity at 9p and p53 immunopositivity in surgical margins predict local relapse in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2011;128:1852-9.
38. Garrel R, Dromard M, Costes V, Barbotte E, Comte F, Gardiner Q, Cartier C, Makeieff M, Crampette L, Guerrier B, Boulle N. The diagnostic accuracy of reverse transcription-PCR quantification of cytokeratin mRNA in the detection of sentinel lymph node invasion in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a comparison with immunohistochemistry. *Clin Cancer Res* 2006;12:2498-505.
39. Rodrigo JP, Dominguez F, Suárez V, Canel M, Secades P, Chiara MD. Focal adhesion kinase and E-cadherin as markers for nodal metastasis in laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;133:145-50.
40. Roepman P, Wessels LF, Kettelarij N, Kemmeren P, Miles AJ, Lijnzaad P, Tilanus MG, Koole R, Hordijk GJ, van der Vliet PC, Reinders MJ, Slootweg PJ, Holstege FC. An expression profile for diagnosis of lymph node metastases from primary head and neck squamous cell carcinomas. *Nature Genet* 2005;37:182-6.
41. Bos PD, Zhang XH, Nadal C, Shu W, Gomis RR, Nguyen DX, Minn AJ, van de Vijver MJ, Gerald WL, Foekens JA, Massagué J. Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature* 2009;459:1005-9.
42. Zhang XH, Jin X, Malladi S, Zou Y, Wen YH, Brogi E, Smid M, Foekens JA, Massagué J. Selection of bone metastasis seeds by mesenchymal signals in the primary tumor stroma. *Cell* 2013;154:1060-73.
43. Braakhuis BJ, Senft A, de Bree R, de Vries J, Ylstra B, Cloos J, Kuik DJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. Expression profiling and prediction of distant metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol* 2006;59:1254-60.
44. Rodrigo JP, García LA, Ramos S, Lazo PS, Suárez C. EMS1 gene amplification correlates with poor prognosis in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2000;6:3177-3182.
45. Fanjul-Fernández M, Quesada V, Cabanillas R, Cadiñanos J, Fontanil T, Obaya A, Ramsay AJ, Llorente JL, Astudillo A, Cal S, López-Otín C. Cell-cell adhesion ge-

nes CTNNA2 and CTNNA3 are tumour suppressors frequently mutated in laryngeal carcinomas. Nat Commun. 2013;4:2531.

46. Llanos S, García-Pedrero JM, Morgado-Palacin L, Rodrigo JP, Serrano M. Stabilization of p21 by mTORC1/4E-BP1 predicts clinical outcome of head and neck cancers. Nature Commun 2016;7:10438.

FIGURAS

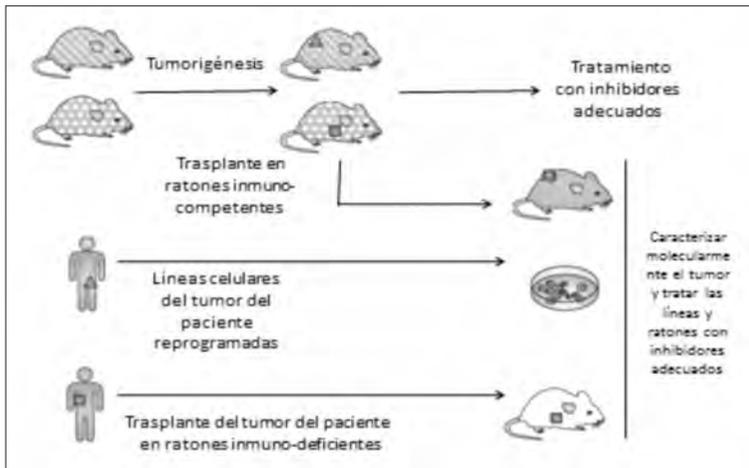


Fig. 1. Modelos animales en cáncer [modificado de Doroshow (15)].



Fig. 2. Espectro mutacional en carcinomas no microcíticos de pulmón.

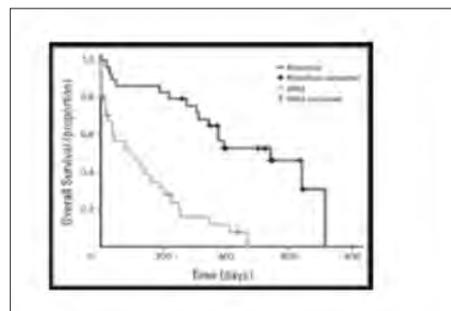


Fig. 3. Supervivencia de los pacientes que recibieron gefitinib cuando tenían mutación en EGFR y cuando no la tenían [tomado de Inoue (17)].

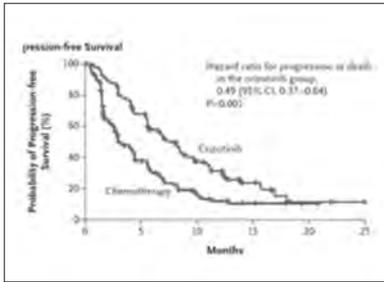


Fig. 4. Supervivencia libre de progresión en pacientes con carcinoma de pulmón ALK+ tratados con crizotinib o con quimioterapia [tomado de Shaw (19)].

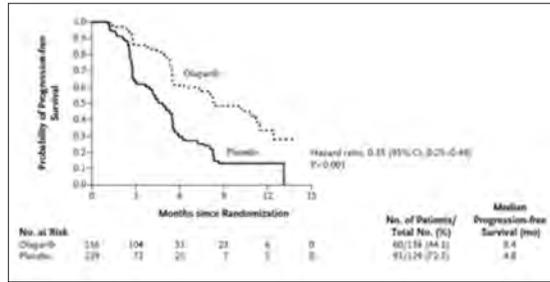


Fig. 5. Supervivencia libre de progresión en tumores de ovario BRCA+ con olaparib en comparación a placebo [tomado de Ledermann (23)].

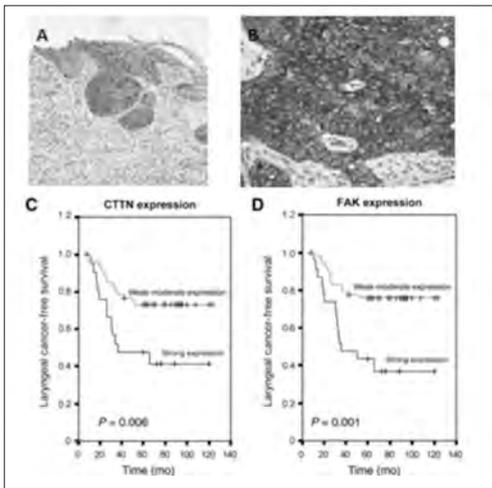


Fig. 6. A. Sobre-expresión de CTTN. B. sobre-expresión de FAK. C. La expresión fuerte de cortactina (CTTN) se asocia con progresión maligna en la lesiones laríngeas premalignas. D. Asociación de expresión fuerte de FAK a progresión maligna [tomado de Rodrigo (29)].

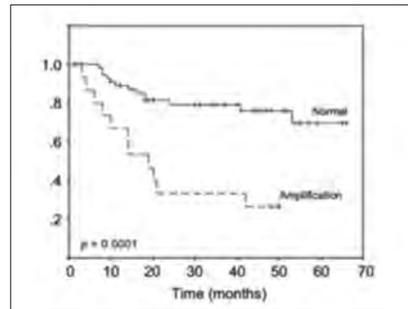


Fig. 7. La amplificación de CTTN se asocia a una significativa peor supervivencia en los carcinomas de laringe [tomado de Rodrigo (28)].

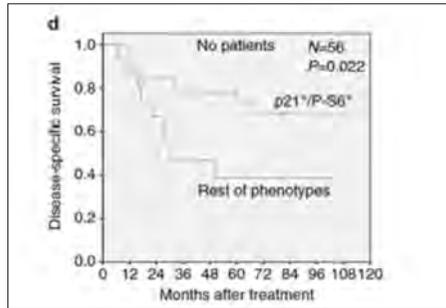


Fig. 8. Los pacientes con tumores doble positivos a p21 y P-S6 presentan una mejor supervivencia específica que el resto de fenotipos [tomado de Llanos (46)].